

**Departamento de Medicina  
Facultad de Medicina  
Universidad Autónoma de Madrid**

**Prevalencia y consecuencias de las  
alteraciones del metabolismo mineral en  
cardiopatía isquémica.**

**Tesis Doctoral**

**Álvaro Aceña Navarro  
Licenciado en Medicina  
Especialista en Cardiología**

**Directores: José Tuñón Fernández  
Jesús Egido de los Ríos**

## AGRADECIMIENTOS

A lo largo de los últimos años he tenido la suerte de poder trabajar al lado del Profesor Tuñón, que es la persona que me animó a embarcarme en este proyecto, y la responsable de que ahora salga a la luz, gracias a su inigualable capacidad de trabajo, junto a su conocimiento de la Medicina en todas sus vertientes (clínica, académica e investigadora). Siempre estaré en deuda con él por permitirme estar dentro de su grupo de trabajo y por poder aprender y disfrutar día a día de su conocimiento y de su forma de entender la Medicina y la propia vida.

Ha sido un honor poder trabajar con el Profesor Egido dentro de su grupo de investigación Vascular y Renal que está considerado como uno de los más importantes del país.

Me gustaría mencionar en este listado al Dr. Farré, por la oportunidad que me dio en 2010 de formar parte del Servicio de Cardiología de la Fundación Jiménez Díaz, tras mi periodo en el Hospital Ramón y Cajal, cuna de mi formación. En ambos hospitales he tenido la suerte de poder trabajar junto a grandes cardiólogos y muchos de ellos, a día de hoy, son grandes amigos, por lo que quiero dar las gracias a todos ellos así como a todo el personal que ha hecho posible este trabajo.

No puedo dejar de nombrar y agradecer a mis padres y hermana, su ejemplo vital, que me ha inculcado la capacidad de trabajo y el espíritu de superación, y me han enseñado los valores vitales que me acompañaran siempre. Quiero reconocer desde aquí a Don Jesús (hoy 23 de Septiembre), mi abuelo, que desde que tengo uso de razón me cogía en sus rodillas y me enseñaba “Medicina”, aunque tú nunca pudiste

cumplir tu sueño de ser médico sé que en parte yo lo soy gracias a ti, y también sé que esta Tesis te hacía casi más ilusión a ti que a mí mismo.

Gracias a ti Leti, por estar a mi lado, por hacerme mejor persona, por todo lo que hemos hecho y por todo lo que nos queda por hacer y por hacerme feliz cada día. Y por supuesto gracias, infinitamente gracias a vosotros Nacho, Guille y al niñ@ que está en camino porque me mantenéis siempre con fuerzas y hacéis que sea la persona más feliz del mundo por teneros junto a mí.

## Tabla de abreviaturas

AIT	Accidente Isquémico Transitorio
ARA II	Antagonista de los Receptores de Angiotensina II
CTGF	Connective Tissue Growth Factor
ERC	Enfermedad Renal Crónica
FA	Fibrilación Auricular
FEVI	Fracción de Eyección de Ventrículo Izquierdo
FGF	Factores de Crecimiento de Fibroblastos
FGRe	Filtrado Glomerular Renal estimado
GMC-SF	Granulocyte Macrophage Colony - Stimulating Factor
HTA	Hipertensión Arterial
HVI	Hipertrofia Ventricular Izquierda
I-TAC	Interferon inducible T-cell Alpha Chemoattractant
IAMCEST	Infarto Agudo de miocardio con elevación del ST
ICAM-1	Intercellular Adhesion Molecule 1
IECAS	Inhibidores de la Enzima Convertidora de la Angiotensina
IL-3	Interleucina-3
IP-10	Interferon inducible Protein-10
MCP-1	Monocyte Chemoattractant Protein 1
MCSF	Macrophage Colony Stimulating Factor
MIG	Monokine induced by Interferón- $\gamma$
MMP	Metaloproteinasas
NF- $\kappa$ B	Factor nuclear $\kappa\beta$
PDGF	Factor de Crecimiento Derivado de las Plaquetas
PTH	Paratohormona
SCA	Síndrome Coronario Agudo
SCASEST	Síndrome Coronario Agudo sin elevación del ST
TGF- $\beta$	Transforming Growth Factor- $\beta$
TIMPS	Inhibidores Tisulares de las Metaloproteinasas
VEGF	Vascular Endotelial Growth Factor
VLA-4	Very Late Antigen 4



# ÍNDICE

1.- INTRODUCCIÓN.....	Pág. 6
1.1. ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR.....	Pág. 6
1.2. PATOGENIA DE LA ATROSCLEROSIS.....	Pág. 15
1.3. HIPERTROFIA VENTRICULAR IZQUIERDA.....	Pág. 34
1.4. METABOLISMO MINERAL.....	Pág. 36
1.5. RECAPITULACIÓN.....	Pág. 51
2.- HIPÓTESIS.....	Pág. 52
3.- OBJETIVOS.....	Pág. 53
4.- MÉTODOS.....	Pág. 54
5.- RESULTADOS .....	Pág. 61
6.- DISCUSIÓN.....	Pág. 82
7.- CONCLUSIONES.....	Pág. 95
8.- REFERENCIAS.....	Pág. 96
9.- ANEXO: PUBLICACIONES A LAS QUE HA DADO LUGAR ESTA TESIS DOCTORAL.....	Pág. 136

# INTRODUCCIÓN

## 1. ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

Las enfermedades cardiovasculares son la principal causa de muerte en todo el mundo. Cada año mueren más personas por dicho motivo que por cualquier otra causa (1). Se calcula que en 2008 murieron por este problema 17,3 millones de personas, lo cual representa un 30% de todas las muertes registradas en el mundo (1).

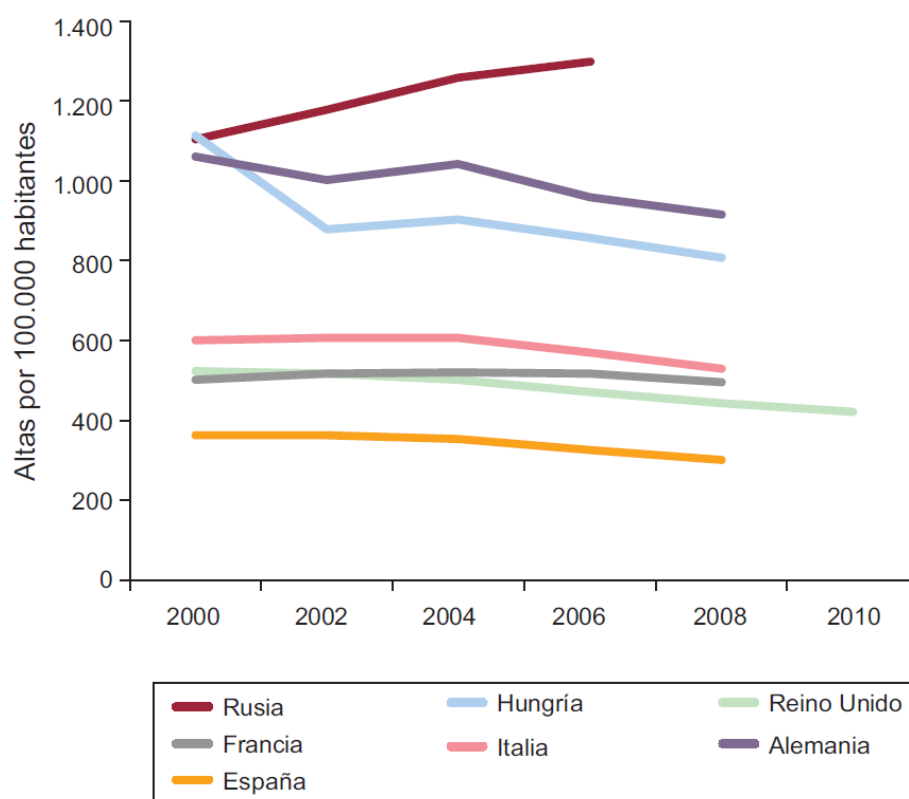
Se estima que en 2030 morirán cerca de 23,3 millones de personas por enfermedad cardiovascular y se prevé que siga siendo la principal causa de muerte (2).

En los inicios del siglo XX se objetivó un progresivo descenso de la mortalidad por enfermedades infecciosas y un aumento en la incidencia de la enfermedad coronaria (3). La enfermedad aterosclerótica comienza a aparecer desde la infancia siguiendo una evolución subclínica durante décadas, manifestándose generalmente en los hombres entre la quinta y la sexta década de la vida y en las mujeres 10 años después (4). Dentro de sus manifestaciones clínicas destaca la angina de pecho, el infarto agudo de miocardio, la muerte súbita y el accidente vascular cerebral (1).

Entre las enfermedades cardiovasculares, la aterosclerosis es la más frecuente. La mayoría de las muertes se deben a aterosclerosis coronaria, seguidas de los accidentes vasculares cerebrales (5). La aparición de la enfermedad y su progresión están condicionadas por la presencia de los llamados factores de riesgo cardiovascular. En las cuatro últimas décadas la tasa de mortalidad por cardiopatía isquémica ha descendido en los países desarrollados, pero sigue siendo la causa de aproximadamente un tercio de todas las muertes de sujetos mayores de 35 años (6).

Esta patología presenta una gran variabilidad geográfica en la incidencia y en la mortalidad, que difiere en gran medida, incluso en países cercanos. En nuestro entorno, se estima que cada año la enfermedad cardiovascular causa, en total, unos 4 millones de fallecimientos en Europa, la mayor parte por enfermedad coronaria (7).

En relación con la incidencia (número de casos nuevos) durante la última década, y analizando la tasa de altas hospitalarias por enfermedad coronaria en varios países de nuestro entorno (**figura 1**) se observa, además de la citada diferencia entre países, una tendencia general hacia una discreta disminución de la incidencia desde la mitad de la presente década (8). Los peor parados resultan ser los países del Este y del Centro de Europa: Ucrania, Bulgaria y la Federación Rusa muestran la salud cardiovascular más deficiente del viejo continente relacionándose con el escaso control de los factores de riesgo cardiovascular así como con el dinero que los países invierten en prevención y tratamiento de dichas enfermedades (8).



**Figura 1. Evolución de las tasas de altas hospitalarias por enfermedad coronaria en varios países europeos durante la última década (8).**

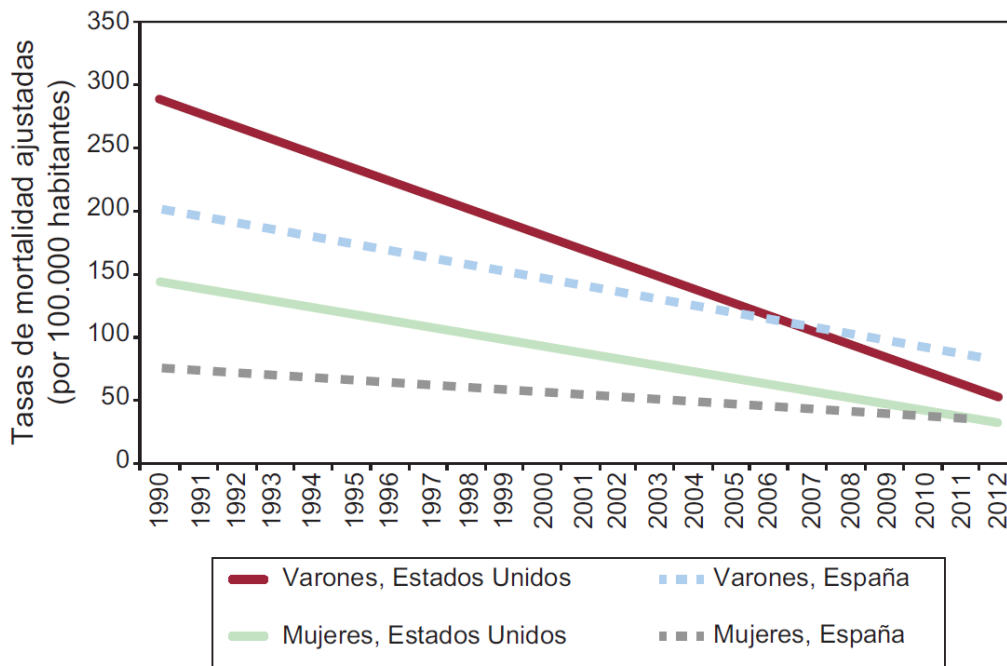
Las tasas de mortalidad por cardiopatía isquémica, independientemente del sexo y de la raza, han caído en los países desarrollados entre un 24% y un 50% desde 1975, aunque el descenso ha sido menor a partir de 1990 (6,9).

Se calcula que un 50% del descenso se puede atribuir a los avances en el tratamiento, tanto en el manejo en la fase aguda de los Síndromes Coronarios Agudos (SCA) (introducción de unidades coronarias, las terapias de revascularización así como generalización de uso de aspirina, betabloqueantes, Inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina [IECA] y estatinas), como en el tratamiento para la insuficiencia cardiaca. El otro 50% se ha atribuido a un mejor control de los factores de riesgo en la población general, como es la reducción del colesterol total (24%), la

presión arterial sistólica (20%), el tabaquismo (12%) y el sedentarismo (5%) (10). Aunque en el estudio EUROASPIRE se objetivó que este control no es óptimo todavía (11). Estas mejoras al controlar los factores de riesgo en países desarrollados se han visto mermadas por un incremento en el índice de masa corporal medio y la prevalencia de diabetes mellitus, a los que se considera causa de aproximadamente un 18% de la mortalidad por cardiopatía coronaria (8).

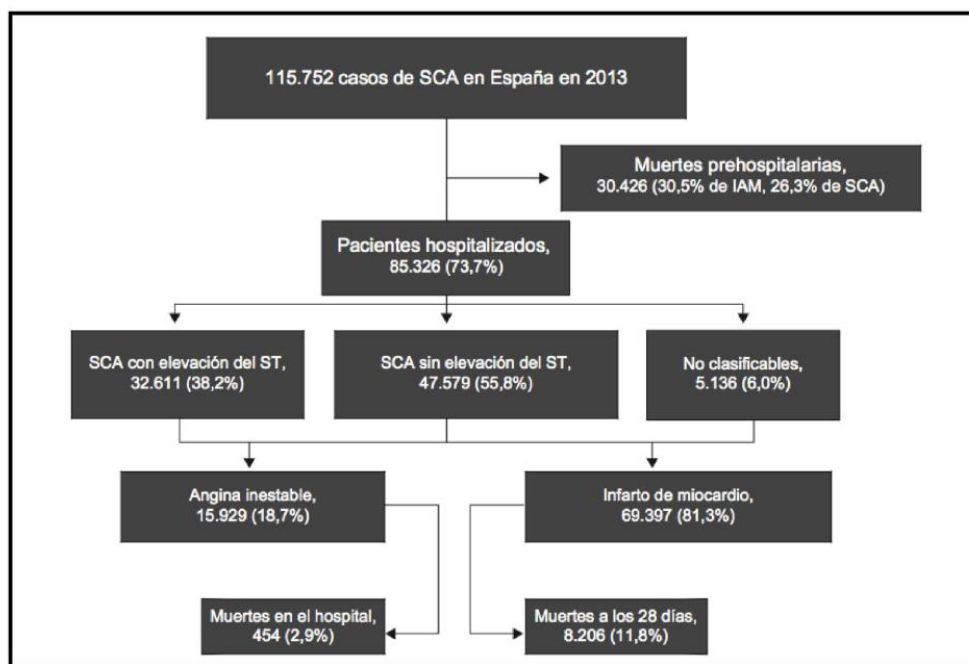
En lo que respecta al IAMCEST la mortalidad difiere si son datos obtenidos de ensayos clínicos, en los que la mortalidad a los 30 días ha pasado del 13% sin tratamiento revascularizador, al 6-7% con fibrinolítico y baja al 3% con terapia revascularizadora invasiva (12,13,14,15). En datos obtenidos fuera de los ensayos clínicos, la mortalidad se sitúa en un 9% durante el ingreso y 11% a los 30 días (16,17). En un reciente registro francés publicado en 2012, se objetivó que en el período que va desde 1995 hasta 2010, la mortalidad por IAMCEST ha pasado del 13,7 al 4,4%.(18).

En nuestro país se ha realizado una estimación de la evolución de la tasa de mortalidad por IAM y se ha comparado con la de Estados Unidos. En este estudio se observa un descenso relativo más acusado en este último país, de manera que la tasa de mortalidad esperada, según el modelo, sería inferior en Estados Unidos a partir de 2008 en varones y de 2012 en mujeres (**figura 2**) (19).



**Figura 2 Tasa de mortalidad por infarto de miocardio observada (1990-2006) y estimada (2007) en Estados Unidos y España (19).**

Los datos del registro REGICOR muestran que el IAM tiene todavía una letalidad elevada en nuestro país. (20). Un 20% de los pacientes entre 35 y 74 años con IAM que llegan vivos al hospital muere durante la estancia hospitalaria. Casi la mitad (42,1%) de todos los pacientes entre 35 y 74 años que presentan un IAM muere antes de transcurrido un mes y dos tercios de estas muertes se producen sin que los pacientes alcancen la atención especializada hospitalaria. En el registro PRIMVAC se observó una disminución de la letalidad intrahospitalaria desde un 14,1% en 1995 hasta un 8,9% en 2004. (21) Los datos sobre la situación del SCA en España en 2013 han sido publicados como una estimación. (22) En ellos se aprecia que la mortalidad del IAM con y sin elevación del ST a los 28 días sigue estando entorno al 11% (**figura 3**).



**Figura 3. Diagrama de flujo del número de casos de síndrome coronario agudo en España: datos de población, muertes fuera del hospital y letalidad a los 28 días del inicio de los síntomas de los pacientes hospitalizados. (22).**

La mortalidad a 6 meses de los pacientes dados de alta tras sufrir un Síndrome Coronario Agudo en nuestro país fue del 3,8% en 2013 según el estudio DIOCLES (23). Es de destacar que un gran porcentaje de pacientes con Síndromes Coronarios Agudos fallecen antes de llegar al hospital sin que puedan beneficiarse de todos los avances que han mejorado el pronóstico de esta patología (24). Estos datos establecen la necesidad de buscar la manera de identificar a los sujetos con riesgo de desarrollar un SCA y de estratificar el riesgo de los pacientes que ya lo han padecido, y nos llevan a establecer los factores de riesgo de aterotrombosis.

Llamamos factores de riesgo de aterotrombosis a aquellas condiciones cuya presencia facilita el desarrollo de esta patología, y cuya erradicación o atenuación, bien por fármacos bien por cambios en el estilo de vida, resulta en una menor incidencia de esta patología. Tras unas primeras observaciones que sugerían que las dietas ricas en

grasas se asociaban a una mayor incidencia de aterosclerosis coronaria, el estudio Framingham confirmaba que la hipercolesterolemia, la hipertensión arterial y el sexo varón eran, efectivamente, factores de riesgo coronario (25). Posteriormente, múltiples estudios añadirían el tabaquismo y la diabetes a la lista de los factores de riesgo coronario hoy conocidos como “clásicos”, junto a la edad y los niveles bajos de HDL (26,27,28). En el registro MRFIT, que incluyó 380.000 personas provenientes de tres estudios prospectivos sin antecedentes de enfermedad coronaria previa, se establecieron como factores de riesgo colesterol  $\geq 240$  mg/dl, presión arterial sistólica  $\geq 140$  mmHg o diastólica  $\geq 90$  mmHg, hábito tabáquico y diabetes (29).

El estudio INTERHEART mostró que se relacionan con el riesgo de IAM el consumo de tabaco (razón de probabilidades 2,87, con un riesgo poblacional atribuible –RPA– del 35,7% frente al que nunca fumó), la hiperlipemia, medida como la relación APOB/APOA1 (razón de probabilidades 3,25 para el quintil superior frente al inferior con un RPA 49,2% para los cuatro quintiles superiores en comparación con el inferior), historia de hipertensión arterial (1,91, RPA 17,9%), diabetes (2,37, RPA 9,9%), obesidad abdominal (1,12 para el tercil superior en comparación con el inferior, RPA 20,1% para los dos terciles superiores comparados con el inferior), factores psicosociales (2,67, RPA 32,5%), y que son protectores el consumo diario de frutas y verduras (0,70, RPA 13,7% para el grupo que no consumía), el consumo moderado de alcohol (0,91, RPA 6,7%), y la realización de actividad física regular (0,86, RPA 12,2%) (30).

Es decir, además de los factores de riesgo clásicos, en este estudio destacan otros como la obesidad y la dieta como factores de riesgo importantes. Así, la obesidad se asocia con otros factores de riesgo para la aparición de aterosclerosis, enfermedad cardiovascular y mortalidad cardiovascular, como la hipertensión arterial, la resistencia



insulínica, la intolerancia a la glucosa, la hipertrigliceridemia, niveles reducidos de colesterol HDL y bajos de adiponectina, así como disminución en la actividad física. Sin embargo, en datos obtenidos del estudio Framingham, la obesidad (medida como índice de masa corporal) se asoció significativa e independientemente a la aparición de enfermedad cardiovascular y cerebrovascular, tras ajustar para los factores tradicionales (31,32).

Con respecto a la dieta, además del efecto protector de la dieta rica en frutas y verduras que mostró el estudio INTERHEART, sabemos que ingestas ricas en glúcidos (medido tanto en el porcentaje de la dieta como en “sobrecargas” puntuales), aumenta el riesgo relativo de enfermedad cardiovascular entre un 25-50% (33). Además, la dieta rica en carne roja y grasa (dos o más tomas diarias) ha mostrado aumentar el riesgo hasta un 29% comparado con aquellos que la toman 0,5 veces al día de media(34). La dieta rica en fibra ha mostrado su efecto protector en varios estudios (35,36).

Relacionado con la obesidad y la dieta, otro gran factor de riesgo es la falta de actividad física. Además de lo aportado por los grandes registros comentados, en los que se observa una disminución de riesgo con la realización de ejercicio regular moderadamente exigente, cabe destacar que las personas que realizan un ejercicio físico al menos moderado como parte de su trabajo diario tienen menor riesgo comparado con trabajadores sedentarios (37).

Dado que los factores de riesgo clásicos se conocen desde hace tiempo, sería razonable pensar que somos capaces de controlarlos, pero nada más lejos de la realidad; en el estudio EUROASPIRE IV se objetivó que en sujetos ya diagnosticados de

enfermedad coronaria el 16% seguían fumando, un 48,6% mantenían su hipertensión sin controlar y un 80,5% tenían cifras de colesterol elevadas (11).

Un claro ejemplo de esta situación es la hipertensión arterial (HTA). Afecta al 20% de la población adulta mundial, es el primer factor de riesgo para la mortalidad y el tercero más importante como contribuyente a la discapacidad en todo el mundo (38). En nuestro país se ha documentado que la HTA es el factor de riesgo cardiovascular más frecuente en la población española (34%) y en mayores de 65 años esta cifra llega hasta el 67%. (39).

En un estudio realizado en 17 países de todo el mundo que involucró a más de 142.000 personas, el 40% eran hipertensos, el 46,5% desconocían este diagnóstico; de los que estaban al tanto, el 87,5% estaban tratados farmacológicamente pero sólo una minoría de los que recibieron tratamiento estaban controlados (32,5%) (40).

Una de las lesiones de órgano diana que se produce como consecuencia de la HTA mal controlada es la hipertrofia ventricular izquierda (HVI). La HVI es un predictor independiente de mortalidad y morbilidad cardiovascular (41). En un metaanálisis que revisó la prevalencia de HVI en pacientes hipertensos tratados y no tratados en 30 estudios publicados entre 2000 y 2010, se encontró que existía HVI entre el 36 y el 41% de los pacientes con HTA (42).

## **2. PATOGENIA DE LA ATEROSCLEROSIS**

### **La pared arterial sana**

La pared arterial tiene tres capas: la íntima, la media y la adventicia. La íntima está formada por una capa de células endoteliales situadas sobre una lámina basal de tejido conectivo. El endotelio no tiene una mera función de barrera limitante de la sangre, sino varios cometidos de gran interés. Regula el intercambio molecular entre la sangre y la pared vascular, cuyo tono controla produciendo óxido nítrico y prostaglandina  $I_2$ , que inducen relajación de las células musculares lisas de la capa media de la pared arterial (43,44). Además, el óxido nítrico regula la permeabilidad vascular, y tiene acciones antiproliferativas y antitrombóticas (45, 46, 47, 48, 49). Todo ello hace que tenga un papel clave en la protección contra la aterotrombosis.

La capa media está separada de la íntima por la Lámina Elástica Interna, y compuesta por colágeno, fibras elásticas y células musculares lisas, que regulan el tono vasomotor. En el proceso aterosclerótico estas células proliferan y migran siendo responsables de la formación de la cápsula fibrosa de las lesiones.

Por último, la adventicia es la capa más externa de la arteria, estando delimitada de la capa media por la llamada Lámina Elástica Externa, compuesta de tejido conectivo al igual que la interna. Esta capa está compuesta de tejido fibroelástico que contiene nervios y vasa vasorum. Quizás por ser la más alejada de las lesiones, es la que menos atención ha recibido en el estudio del proceso aterotrombótico (50). Sin embargo, en estos años se ha reivindicado un papel para ella en la etiopatogenia de la aterosclerosis (51).

### **Formación de la placa aterosclerótica**

Las lesiones ateroscleróticas se presentan fundamentalmente en vasos grandes y medianos y, dentro de ellos, en la cara interna de las curvaturas o frente a las bifurcaciones, donde las condiciones de flujo facilitan la acumulación de moléculas en la pared arterial (52). En estas zonas hay un menor rozamiento de la sangre circulante sobre la pared vascular, y esto hace que el endotelio no exprese su fenotipo habitual de células ordenadamente alineadas en la dirección del flujo (53,54).

Además hay un aumento del recambio celular y, como consecuencia, disminuyen las uniones intercelulares, aumentando la permeabilidad endotelial a las moléculas circulantes en sangre (52, 55, 56).

### **Disfunción endotelial**

La disfunción endotelial es el evento inicial de la aterosclerosis (57). El hecho clave de la disfunción endotelial es una menor disponibilidad de óxido nítrico, que puede deberse tanto a una disminución de su producción como a una mayor destrucción del mismo. El endotelio libera óxido nítrico en respuesta a varias sustancias que estimulan los receptores acoplados a proteínas Gi sensibles a la toxina pertussis (serotonina, agonistas adrenérgicos  $\alpha_2$  y trombina) o a proteínas insensibles a esta toxina (ADP, bradicinina) (58, 59). Se ha demostrado que la LDL oxidada interfiere selectivamente con la primera de estas dos vías in vitro y que disminuye la expresión de óxido nítrico sintasa endotelial, que sintetiza constitutivamente óxido nítrico en el endotelio (60, 61, 62).

Además, un incremento de la presencia de dimetil L-arginina asimétrica, un inhibidor endógeno de la óxido nítrico sintasa endotelial cuyos niveles están aumentados en la hipercolesterolemia, puede potenciar estos mecanismos (63, 64).

Otra vía que resulta en una menor disponibilidad de óxido nítrico sería un aumento de su catabolismo. En condiciones fisiológicas, el óxido nítrico se degrada reaccionando con el superóxido y la oxihemoglobina (65). En la aterosclerosis se ha observado un aumento de estrés oxidativo, con generación de superóxido por las oxidasas endoteliales (66, 67, 68). Además de reducir la disponibilidad de óxido nítrico, esta reacción tiene otro efecto deletéreo. La reacción del óxido nítrico con el superóxido produce peroxinitrito (ONOO<sup>-</sup>), que a bajas concentraciones tiene acciones similares al óxido nítrico y puede actuar incluso como donante de esta molécula, pero en elevada cantidad es un potente oxidante (69, 70, 71, 72). Este compuesto puede fragmentar proteínas por nitración de aminoácidos, causar toxicidad por radicales hidroxilo y formar ácido peroxinitroso, que es tóxico (73, 74, 75). Además, un aumento de síntesis de óxido nítrico por la óxido nítrico sintasa inducible por citoquinas podría contribuir a elevar los niveles de peroxinitrito (76)

El sistema renina-angiotensina juega un papel importante en la disfunción endotelial. La angiotensina II es un potente agente oxidante, y aumenta la producción de anión superóxido tanto in vivo como in vitro, a través de la ruta metabólica de la NADH/NADPH (nicotinamida adenín dinucleótido fosforilado/nicotinamida adenín dinucleótido fosforilado reducido) (77,78). Además, se ha sugerido que la Angiotensina II podría regular a la baja la expresión de óxido nítrico sintasa endotelial a través de la vía de protein-kinasa C (79). Así, un aumento de la Angiotensina II tisular puede contribuir a un incremento de la destrucción de óxido nítrico y a una reducción de su producción. De hecho, se ha visto que los fármacos que interfieren con el sistema renina-angiotensina mejoran la función endotelial y que en las lesiones

ateroscleróticas hay un aumento de expresión del enzima convertidor de angiotensina (80,81).

### **Reclutamiento celular**

En condiciones fisiológicas las lipoproteínas que entran en el espacio subendotelial vuelven a la sangre mediante un mecanismo de transporte invertido del colesterol en el que pueden estar involucradas las lipoproteínas de alta densidad (HDL) (82). Cuando hay disfunción endotelial, el aumento de permeabilidad vascular hace que la cantidad de LDL que entra en la pared del vaso exceda la capacidad del sistema de transporte invertido del colesterol para devolverla a la sangre. A esto se une el hecho de que algunos factores de riesgo, como la diabetes y el tabaco, reducen los niveles de HDL dificultando aún más el lavado de LDL (83,84,85,86). Además, en la diabetes hay glicosilación de las LDL, lo que impide que sean reconocidas por sus receptores y hace que se aclaren más lentamente de la sangre (87,88).

Todo esto, junto a la capacidad de los proteoglicanos de la pared arterial para retener las lipoproteínas, resulta en un aumento del tiempo de residencia de éstas en el espacio subendotelial. Aquí las lipoproteínas sufrirán una primera oxidación, facilitada por el hecho de que su unión a los proteoglicanos las hace más susceptibles a este proceso, dando lugar a las llamadas LDL mínimamente modificadas (89,90).

Estas LDL se unen al endotelio a través del receptor LOX-1 (lectinlikeoxidized-LDL receptor-1) y esto, junto con el estado oxidativo existente en el medio, la Angiotensina II y, probablemente, las menores fuerzas de rozamiento presentes en las áreas propensas a la aterosclerosis activan el factor nuclear- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) mientras que

moléculas protectoras como las HDL o el propio óxido nítrico tienen el efecto opuesto (91-96).

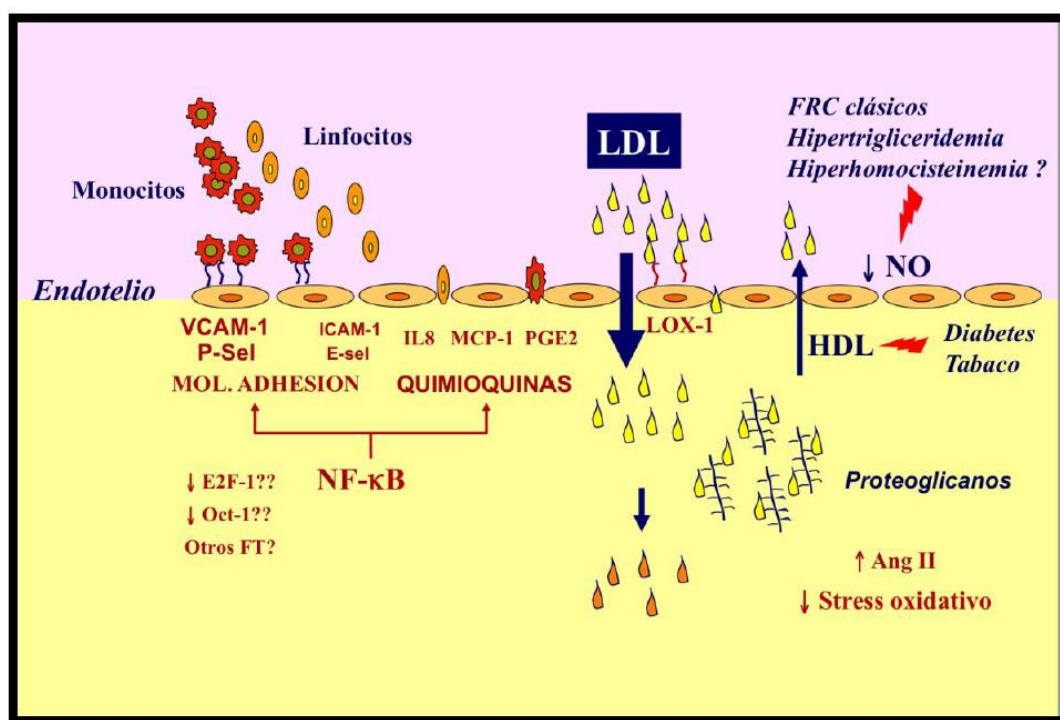


Figura 4. Esquema de la interacción de las diferentes citoquinas involucradas en la disfunción endotelial, en el que se aprecia la vía del NF-κB que estimula la síntesis y liberación de moléculas de adhesión (que favorecen la adhesión de células circulantes al endotelio) y quimioquinas (que facilitan la entrada de los leucocitos en el endotelio) (82). ; Ang II: Angiotensina II; E-sel=Selectina E; FT=Factores de transcripción; ICAM-1: Intercellular Adhesion Molecule 1; IL8: Interleucina 8; LOX-1: lectin-type oxidized LDL receptor 1; MCP-1: monocyte chemotactic protein 1; P-sel=Selectina P; PGE2: prostaglandin E2; VCAM-1: vascular cell adhesion molecule 1.

### Moléculas de adhesión y quimioattractantes

El factor NF-κB probablemente juega un papel clave en el proceso activando múltiples moléculas involucradas en la patogenia de la aterosclerosis (93,97). Entre éstas aparecen las moléculas de adhesión, llamadas así porque favorecen la adherencia de las células circulantes al endotelio. La VCAM-1 (vascular cell adhesion molecule-1) es probablemente la que más estrecha relación guarda con el proceso

aterosclerótico, pues se une a la integrina VLA-4 (very late antigen-4), expresada por linfocitos y monocitos, es decir, por los dos principales tipos celulares que infiltran las lesiones. De acuerdo con esto, en modelos animales se ha objetivado la expresión de esta molécula por el endotelio en lesiones ateromatosas incipientes (98). La ICAM-1 (intercelular adhesion molecule-1) podría ser, teóricamente, menos específica de esta entidad, ya que se une a más tipos de leucocitos e incluso es expresada en condiciones normales por el endotelio (99). En el grupo de las llamadas selectinas, posiblemente la P-selectina tiene el papel más importante en la aterogénesis, habiéndose detectado su expresión en el endotelio del ateroma humano (100).

Una vez que las moléculas de adhesión han conseguido fijar a los leucocitos sobre el endotelio, éstos son estimulados por citoquinas quimioattractantes, también llamadas quimioquinas, para hacer diapédesis y penetrar en la pared vascular (Figura 4). Posiblemente la más importante de éstas es el MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1), que es expresada más intensamente en las lesiones ateroscleróticas que en el vaso sano y cuyo bloqueo limita el infiltrado linfomonocitario en ratones apo E (101,102). Se ha demostrado que el tratamiento con estatinas e IECAS reduce su expresión en modelo de aterosclerosis de conejo (92,103). Otras quimioquinas, que estarían involucradas principalmente en el reclutamiento de linfocitos, serían las inducidas por la presencia de interferon- $\gamma$ , que está presente en las lesiones: la MIG (monokine induced by interferon- $\gamma$ ), I-TAC (interferon-inducible T-cell alpha chemoattractant) e IP-10 (interferon-inducible protein-10) (104). Por último, los derivados del ácido araquidónico parecen tener importancia en este proceso. De un lado, el enzima proinflamatorio ciclooxigenasa-2, junto con la prostaglandina E2 sintasa, median la producción de la prostaglandina quimioattractante E2 (105). Por



otro, la lipooxigenasa-5 puede dar lugar al leucotrieno B<sub>4</sub>, con capacidad quimioattractante, ya los cisteinilleucotrienos, que aumentan la permeabilidad vascular (106).

En el espacio subintimal, los monocitos se transforman en macrófagos que, en un proceso mediado por las lipooxigenasas que expresan, oxidarán más intensamente a las LDL mínimamente modificadas (107). Este proceso es favorecido por la Angiotensina II, y la glicosilación previa de la LDL en diabetes que aumentan la susceptibilidad de estas lipoproteínas al proceso oxidativo (81, 108,109). Los mismos macrófagos captan estas LDL oxidadas a través de sus receptores basurero (scavengerreceptors), habiéndose involucrado también a otros receptores, como elCD36 y la macrosialina. Este proceso es mediado por MCSF (macrophage colon y stimulating factor) y potenciado por la Angiotensina II. Los macrófagos así activados estimulan a su vez la expresión celular del enzima convertidora de angiotensina, y por tanto la síntesis de Angiotensina II, cerrando así un círculo vicioso (**Figura 5**) (66,81)

Además, estas células se replicarán, proceso también estimulado por MCSF y otras moléculas, como la IL-3 (Interleukine 3) y el GMC-SF (granulocyte-macrophage colon y stimulating factor). Dado que la captación de lípidos la realizan sin mecanismo de saturación, acaban por degenerar y se transforman en células espumosas sobrecargadas de grasa. Los macrófagos finalmente mueren y liberan lípidos, con los que formarán el núcleo ateromatoso, y sustancias tóxicas como enzimas, radicales libres y aniones superóxido (91,110). Estos productos lesionan el endotelio, que pasará de ser simplemente disfuncionante a tener daño morfológico e incluso en algunas áreas quedará destruido.

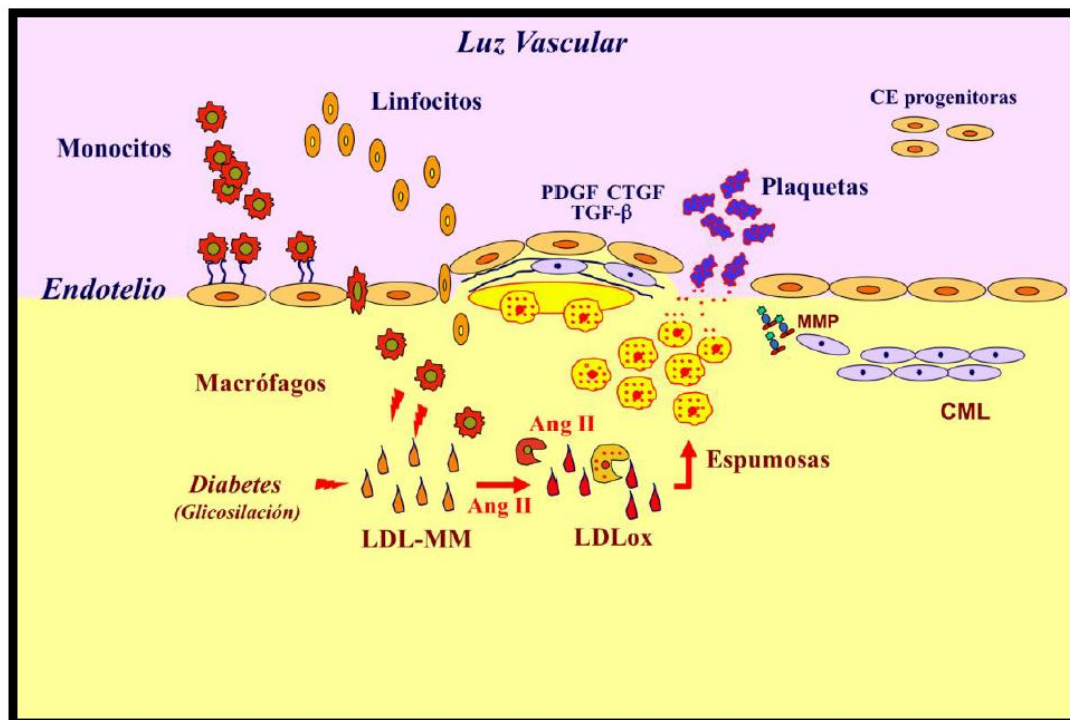


Figura 5. Fisiología del daño endotelial. El daño y ausencia endotelial dejarán expuesto el colágeno de la pared vascular a la sangre sobre el que se adhieren las plaquetas. Estas células, junto con los propios macrófagos segregarán los llamados factores de proliferación. Así, las células musculares lisas proliferan y migran al espacio subendotelial donde cubrirán el núcleo ateromatoso que se ha ido formando a expensas de lípidos extracelulares y células espumosas sobre todo. Además, producirán proteínas de matriz extracelular (colágeno, etc.) con las que formarán lo que será la cápsula de la lesión aterosclerótica (82). AngII: Angiotensina II; CE=Células endoteliales; CML: Células Musculares Lisas; CTGF: connective tissue growth factor; LDL-MM: minimally modified low density lipoprotein; LDLox: low density lipoprotein Oxidized; MMP: Metaloproteinasas; PDGF: Platelet-derived growth factor; TGF-β: transforming growth factor beta.

### Formación de la cápsula fibrosa

La exposición del colágeno subyacente a la sangre y el estado protrombótico del endotelio disfuncionante estimulan la adhesión de plaquetas a la pared vascular. Estas células perpetúan la reacción inflamatoria estimulando la producción de citoquinas (111). Además, liberan factores de crecimiento, junto con los macrófagos

presentes en la lesión, como el PDGF (factor de crecimiento derivado de las plaquetas). Estos factores inducen la proliferación y migración de las células musculares lisas procedentes de la capa media de la arteria, que se unirán a otras habitualmente residentes en la íntima habiéndose sugerido recientemente que células progenitoras de la adventicia podrían diferenciarse también a células musculares lisas (112-115). Esta fase proliferativa es reforzada por un aumento de la Angiotensina II y una reducción en la presencia de óxido nítrico, que tiene efecto antiproliferativo (66,116-119). Las células musculares lisas de la lesión ateromatosa muestran un fenotipo diferente a las normales, con mayor presencia de órganos secretores, como el retículo endoplásmico, y menor de fibras contráctiles (120). Estas células liberan también factores de crecimiento, cubren el núcleo ateromatoso y, bajo el estímulo de PDGF, TGF- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ) y CTGF (connective tissue growth factor) producen proteínas de matriz junto a las cuales constituirán la cápsula fibrosa (110,121-123). Las proteínas más frecuentemente encontradas en el ateroma son los colágenos I y III, varios proteoglicanos y, también, hay fibras elásticas. La cantidad de estas proteínas dependerá, no solo del nivel de síntesis de las mismas, sino del grado de destrucción que sufran, a cargo de las metaloproteinasas (MMP) (124). Estas enzimas serán además de gran importancia en el fenómeno de migración de células musculares lisas, al ir disolviendo la matriz para que éstas puedan progresar, así como en el remodelado positivo que sufren los vasos cuando las lesiones son aún incipientes (125,126) Es de reseñar que, durante la evolución, puede existir calcificación de la placa favorecida por secreción de citoquinas como las proteínas morfogénicas óseas o la presencia de proteínas con residuos de ácidoglutámico  $\gamma$ -carboxilo, que tiene capacidad de fijar el calcio y promueve la mineralización.

Finalmente, durante este proceso, la placa forma microvasos en probable respuesta a factores angiogénicos, entre otros, VEGF (vascular endotelial growth factor), oncostatina M y factores de crecimiento de fibroblastos (FGF) (127).

Teóricamente estos microvasos pueden contribuir a la aterogénesis de dos modos. Primero, porque suponen una gran superficie de contacto con la sangre, a cuyo través pueden reclutarse más células inflamatorias. De hecho, el endotelio de estos vasos expresa más VCAM-1 que el que cubre la lesión (128) Por otro, porque pueden ser el origen de hemorragias que constituyen un estímulo para la progresión de la placa (129).

### **Complicación de la placa aterosclerótica**

Las placas pueden estar presentes en el árbol arterial en la tercera década de la vida (129,130). Una vez formadas pueden progresar lentamente, continuando el proceso aterosclerótico descrito. Sin embargo, también pueden crecer súbitamente y complicarse con un trombo. En estos casos pueden producir un SCA si el trombo ocluye de manera total o subtotal la luz vascular (130). En los casos en que la oclusión no sea tan severa y no produzca síntomas inmediatos, el trombo va a estimular una reacción fibrótica, favoreciendo la síntesis de colágeno por parte de las células musculares lisas en respuesta a la producción de TGF- $\beta$ , PDGF y otros mediadores liberados por las plaquetas (120). Además, la presencia de trombina induce proliferación de estas células musculares lisas(131). Según el grado de estenosis que produzca la lesión resultante podrá ocasionar angina de esfuerzo o incluso ser asintomática. En este sentido, en las autopsias de sujetos fallecidos por causa no cardiovascular se ha observado que tienen lesiones coronarias con trombos antiguos

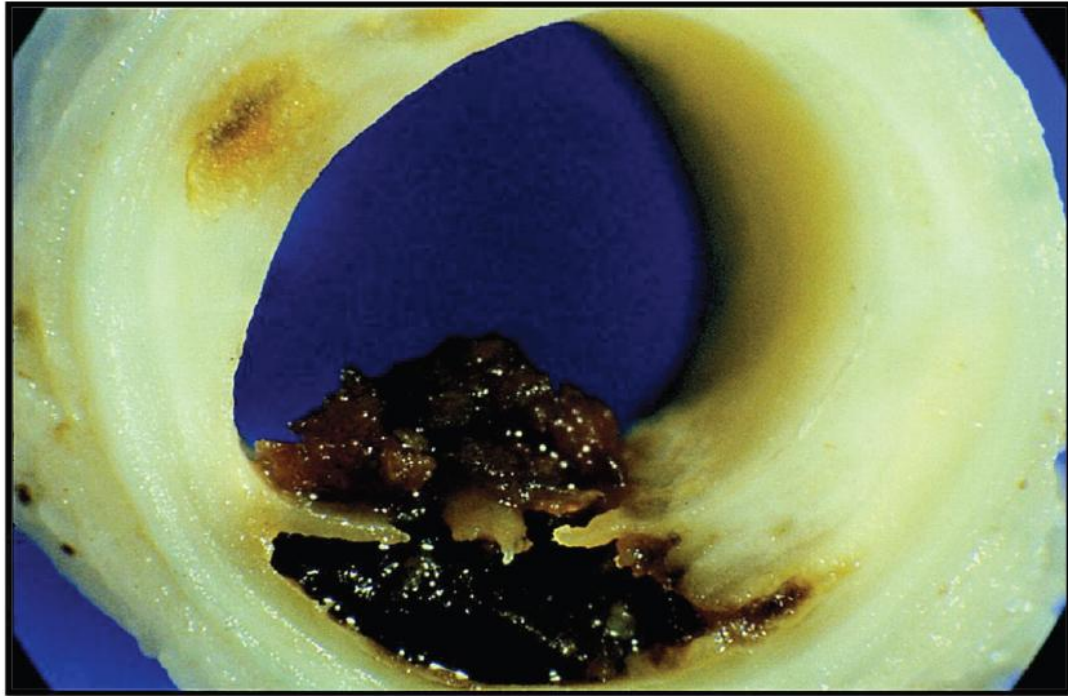
organizados (130). En un estudio que incluyó casi 4.000 autopsias de soldados norteamericanos, 98% varones, con una edad media de 25,9 años, se detectó que la prevalencia de presencia de aterosclerosis coronaria de cualquier magnitud fue del 8,5%, que era severa en un 2,3% y moderada en el 4,7% (132). Aquellos sujetos con enfermedad coronaria tenían mayor prevalencia de dislipemia, HTA, obesidad y mayor edad (30 años frente a 25,  $p < 0,001$ ). Señalamos que en este artículo el tabaquismo no se asoció con mayor prevalencia de lesiones coronarias, quizá debido a la edad de los participantes. Así, este estudio muestra la edad temprana a la que aparecen tanto los factores de riesgo, como la propia aterosclerosis, en una población aparentemente sana y entrenada físicamente.

Es de interés clínico el hecho de que la mayor parte de los SCA se deben a complicaciones de placas que previamente no tenían estenosis severas, como se demostró en estudios en los que los pacientes con un SCA se habían realizado una coronariografía en los meses previos (133,134). Esto se debe, en gran medida, a que las lesiones leves y moderadas son más frecuentes que las severas. Por esta razón, aunque está descrito que las lesiones severas no muestran más datos de vulnerabilidad que las ligeras, individualmente, una lesión severa podría tener más posibilidad de ocasionar un IAM, posiblemente porque el tamaño de trombo necesario para causar una oclusión total es menor (135). Sin embargo, hay datos que sugieren que una lesión no severa podría ser especialmente peligrosa. Así, la ausencia de isquemia crónica en una lesión moderada hará que no se desarrolle circulación colateral que podría ser protectora en caso de oclusión. Por otra parte, se ha visto que las lesiones vulnerables hacen más frecuentemente remodelado positivo, (expansión del vaso) que las estables y es sabido que cuanto mayor es la luz vascular mayor es el

estrés circunferencial sobre las placas (136,137). Esto supone que la ausencia de angina o de isquemia inducible en una prueba de provocación no descarta la posibilidad de que un paciente tenga alto riesgo de sufrir un SCA, lo que ha fomentado la investigación de nuevos abordajes de este problema como, por ejemplo, las técnicas de imagen no invasiva, o los biomarcadores plasmáticos.

### **Ruptura de la Cápsula Fibrosa**

Aproximadamente el 75% de los SCA se debe a este mecanismo (130, 138,139). La cápsula es una estructura rica en colágeno y otras proteínas de matriz extracelular que rodea el núcleo lipídico de las lesiones y les confiere resistencia mecánica a la ruptura (138,139). Si se rompe, la sangre contacta con este core lipídico, que es rico en factor tisular derivado de los macrófagos, y esto desencadenará una trombosis (140). En consecuencia, todo lo que lleve a una reducción de la cantidad de colágeno, o de las células musculares lisas que lo sintetizan, debilitarán la cápsula, haciéndola más propensa a la ruptura.



**Figura 8. Fotografía de una placa aterosclerótica complicada. Obtenida de la referencia (137).**

Aunque las fuerzas hemodinámicas son la causa última de ruptura de la placa, este proceso tiene lugar sobre todo en placas vulnerables. Así hay factores mecánicos que pueden aumentar la vulnerabilidad de la placa. Por ejemplo, el core lipídico no puede soportar la tensión ejercida por la sangre circulante y la redistribuye parcialmente hacia la cápsula fibrosa. Cuanto más grande es el núcleo y menor su consistencia, más cantidad de estrés es redistribuida hacia la cápsula (100). Esta es pues, una de las razones por las que las lesiones ateroscleróticas con cápsulas fibrosas finas y de bajo contenido en colágeno son más propensas a la ruptura (100,139,141). Además de la mayor tensión circunferencial de las placas menos estenosantes, ya referida, también se ha sugerido que las placas situadas en las regiones de arterias coronarias que sufren mayor flexión durante la sístole tienen más posibilidad de romperse (142).

Sin embargo, la ruptura de la cápsula no siempre aparece en las regiones de máximo estrés, sino que también sucede en otras áreas que han sido previamente debilitadas por factores biológicos, entre los que destacan la inflamación y la apoptosis (143).

### **Inflamación**

La presencia de una reacción inflamatoria juega un papel determinante en la vulnerabilidad de las lesiones ateroscleróticas. Se ha visto que las placas responsables de un evento agudo están infiltradas más frecuentemente que las estables por macrófagos, linfocitos T y células musculares lisas activadas (144,145). De acuerdo con esto, se ha comprobado que la temperatura de las placas causantes de SCA es mayor que la de las lesiones estables y que, además, las que tienen una mayor temperatura tras una angioplastia son más propensas a complicarse en el futuro (146).

Las células inflamatorias degradan la matriz extracelular por medio de enzimas como las MMPs, las collagenasas y gelatinasas entre otras, debilitándola (123,147,148). La regulación de las MMPs no sólo es transcripcional. Su actividad también se controla secretándolas como formas inactivas, junto con los llamados inhibidores tisulares de las MMPs (TIMPS), de modo que una disminución de estos inhibidores conllevará un aumento del grado de proteólisis en la placa. Por otra parte, puede haber una reducción de la producción de colágeno, tanto por macrófagos como por células musculares lisas cuando son estimulados por interferón gamma (148-150).

En los últimos años se ha sugerido también que los mastocitos, células inflamatorias presentes principalmente en la adventicia, podrían estar implicadas en la



inestabilidad de la placa por múltiples mecanismos, ya que pueden debilitarla activando MMPs, favoreciendo la generación de Angiotensina II a través de la producción de quinasas, induciendo apoptosis de células musculares lisas, e incluso facilitando el espasmo coronario por liberación de histamina (151,152). De hecho, estas células están presentes más frecuentemente tanto en la placa como en la adventicia de los vasos responsables de un SCA (153,154).

Todo lo comentado para la inflamación en el proceso de formación de la placa es aplicable a este estadio, ya que los mecanismos son similares. Entre las múltiples moléculas proinflamatorias cuya expresión regula al alza el factor de transcripción NF- $\kappa$ B, se encuentran varias MMPs, como la MMP-1 y MMP-3 (155). Acorde con esto, hay una mayor actividad de NF- $\kappa$ B en placas coronarias responsables de un SCA que en las estables (156). Así mismo hay una mayor presencia de NF- $\kappa$ B activado en los hombros de las placas de aterosclerosis carotídea que en la zona de la cápsula (157).

De especial interés en este proceso son el receptor CD40 y su ligando CD40L, que componen un mecanismo clave del sistema inmunológico. La unión de CD40L al receptor desencadena la producción de citoquinas proinflamatorias por parte de la célula, a través de la vía de NF- $\kappa$ B (158,159). Así, el bloqueo de esta vía con un anticuerpo anti-CD40L disminuye el infiltrado de macrófagos y aumenta la presencia de colágeno en la aterosclerosis experimental (160).

El posible papel de la inflamación en la complicación de la placa aterosclerótica ha sido reforzado además por estudios que han demostrado que en los SCA hay un aumento de los niveles plasmáticos de varias de las moléculas inflamatorias descritas, como MCP-1, moléculas de adhesión, varias MMPs, CD40L o del grado de actividad de NF- $\kappa$ B en leucocitos circulantes, entre otros. Es más, incluso una elevación de varias de

éstas en pacientes estables o sujetos sanos pueden predecir la aparición de un SCA (161-167). En este sentido, se ha visto que la aspirina en prevención primaria es más efectiva precisamente en los sujetos con mayores niveles de proteína C reactiva (163). Además, otros tratamientos efectivos en esta patología, como pueden ser las estatinas, y los IECAS, reducen la inflamación en las placas de ateroma (168-171). Incluso el vino tinto reduce la inflamación en células circulantes en seres humanos (172).

Por último, es importante reseñar el vínculo existente entre inflamación y trombosis. Por ejemplo, NF- $\kappa$ B regula al alza la expresión de factor tisular, presente en el núcleo lipídico de las lesiones y que es clave en la iniciación de la trombosis (91). Por otra parte, el ligando CD40L no solo se une a su receptor, sino que es capaz de hacerlo a los receptores IIb-IIIa de las plaquetas, dotando de mayor estabilidad al trombo (173). Posiblemente en relación con esto, los fármacos bloqueadores de estos receptores son más efectivos en los pacientes con SCA que tienen niveles altos de CD40L (174).

### **Apoptosis**

Este proceso fisiológico de suicidio celular está presente en las placas ateroscleróticas y podría tener un papel potencial en su complicación (174,175). Los macrófagos liberan MMPs y factor tisular cuando sufren apoptosis, lo que podría favorecer la ruptura y trombosis de la placa (176,177). Por otra parte, se ha sugerido que un aumento de la tasa de apoptosis de las células musculares lisas debilitaría la placa, ya que ellas forman la cápsula de la misma y producen proteínas de matriz como

el colágeno. De acuerdo con esto, los especímenes de aterectomía coronaria de placas complicadas contienen más células musculares lisas apoptóticas y menos cantidad de estas células que las placas estables (178). Más aún, recientes observaciones han puesto de manifiesto que hay más expresión de caspasa 3 activa, el enzima iniciador de apoptosis, en los hombros de placas ateroscleróticas de carótida extraídas por endarterectomía, es decir, en la región más vulnerable a la ruptura (168). En todo caso, los mecanismos reguladores del equilibrio entre formación y destrucción de la cápsula no están aclarados ya que, por ejemplo, el factor profibrótico CTGF al que nos hemos referido previamente es también capaz de inducir apoptosis de células musculares lisas, con lo que es difícil saber cual es el efecto que prevalecerá sobre la producción de matriz extracelular (122,123,179).

### **Infección**

A nivel experimental se han descrito múltiples mecanismos por los cuales varios microorganismos podrían inducir trombosis de la placa, como la producción de citoquinas, de factores protrombóticos o desencadenar reacciones de autoinmunidad por semejanza con algún componente de estos agentes a los de la pared vascular (180-183). Sin embargo, no hay una clara evidencia clínica de que la infección juegue un papel habitual en la aterosclerosis. Así, diversos estudios serológicos para *Chlamydia Pneumoniae* y Citomegalovirus han mostrado datos discordantes (180,184,185). Igualmente, los estudios que han ensayado tratamiento antibiótico, fundamentalmente contra *Chlamydia*, y han analizado su efecto en la incidencia de eventos coronarios agudos han arrojado resultados dispares (186-190). Por tanto, cabe concluir que la infección no es un factor habitualmente presente en la formación y

complicación de las placas ateroscleróticas, aunque no podemos descartar por completo que tenga un papel importante en algún subgrupo de casos.

### **Trombosis sin ruptura de placa**

Este mecanismo se ha observado en una cuarta parte de los casos (138). Conlleva una pérdida del endotelio que recubre las placas, exponiendo el colágeno a la sangre, lo que causa adhesión plaquetaria. En las placas avanzadas es habitual que haya cierta deposición de plaquetas que no ocasione síntomas y que, por los mecanismos explicados, induzca la proliferación de células musculares lisas(191). Los estudios de autopsia muestran dos patrones posibles bajo la erosión. Van der Waal et al encontraron infiltrados inflamatorios similares a los presentes en los casos de ruptura de la cápsula, (144) mientras que Farb et al describen un alto contenido en proteoglicanos, con células musculares lisas próximas y, en cambio, escaso contenido lipídico e inflamatorio (192). Este último cuadro se veía sobre todo en mujeres jóvenes y estaba relacionado con el tabaco, y menos con los niveles de colesterol. No se conoce el mecanismo de la trombosis en estos casos. Se ha sugerido que algún tipo de proteoglicano presente en las placas podría favorecer la trombosis (192,193). Otra posibilidad es que pueda deberse a un estado protrombótico sistémico. En este sentido es sabido que los leucocitos activados pueden transferir factor tisular activado a las plaquetas (194). Por último, existe la posibilidad de que pueda haber una deficiencia de moléculas antitrombóticas, como la trombomodulina y la proteína C en las placas, facilitando la trombosis (195). Son pues necesarias más investigaciones para dilucidar el mecanismo de la trombosis en estos casos. De todas maneras, estos datos

nos llevan al concepto de una posible heterogeneidad en la fisiopatología de los SCA dependiendo de los factores de riesgo coronario que existan en cada caso.

### **3. HIPERTROFIA VENTRICULAR IZQUIERDA**

Las anomalías en la geometría ventricular izquierda, incluyendo la HVI, en muchas ocasiones se producen en respuesta a la HTA y a otros trastornos cardiovasculares; La HVI es un factor de riesgo independiente de cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca, arritmias, incluyendo muerte súbita, accidente cerebrovascular y otras causas de morbilidad y mortalidad cardiovascular (196,197,41). En un metaanálisis que revisó la prevalencia de HVI en pacientes hipertensos tratados y no tratados en 30 estudios publicados entre 2000 y 2010, se encontró que existía HVI entre el 36 y el 41% de los pacientes con HTA (42).

Según la ley de Laplace aumentos en la masa ventricular pueden ser beneficiosos a corto plazo, al permitir una reducción de la tensión de la pared del ventrículo izquierdo. Sin embargo, a largo plazo, las anomalías geométricas del ventrículo izquierdo, particularmente la HVI, pueden aumentar el riesgo de insuficiencia cardíaca y otros trastornos cardiovasculares tanto en población con HTA como en población con cardiopatía isquémica (198-201).

En distintos estudios epidemiológicos se han identificado la edad, la HTA y el sobrepeso, como los principales factores de riesgo para desarrollar HVI (196,202) y se ha relacionado también con otras entidades como la diabetes (203), dislipemia (204), cardiopatía isquémica (205), estenosis aórtica y otras lesiones valvulares (206) así como con la raza Afroamericana (207).

Hace más de tres décadas en el estudio Framingham se documentó que la presencia de HVI en el ECG, se asociaba con un incremento de 6 veces el riesgo de cardiopatía isquémica y de 8 veces de mortalidad cardiovascular (205).

La HVI tiene múltiples consecuencias en el corazón:

- Disminuye la capacidad de incrementar el flujo coronario en situaciones de stress (208).
- Afecta a la función ventricular desarrollando fundamentalmente disfunción diastólica y se ha llegado a documentar que hasta en el 13% de los pacientes con función ventricular conservada con HVI durante un seguimiento de 3 años desarrollan disfunción ventricular sistólica (197).
- Hace tres décadas se evidenció que los pacientes con HVI presentaban mayor prevalencia de ectopia ventricular y se asoció a un mayor riesgo de muerte súbita (209). Varios estudios ecocardiográficos demostraron la asociación entre HVI, ectopia ventricular y muerte súbita (210), mientras que la regresión de la HVI se asoció con una reducción del riesgo de muerte súbita (211).
- La HVI es un fuerte predictor de fibrilación auricular (212,213), incluyendo un incremento del 20% de riesgo de desarrollar fibrilación auricular por cada incremento de una desviación standard de HVI (212). Además la regresión de los parámetros de HVI en el ECG se asoció con una reducción de riesgo de esta arritmia (214)

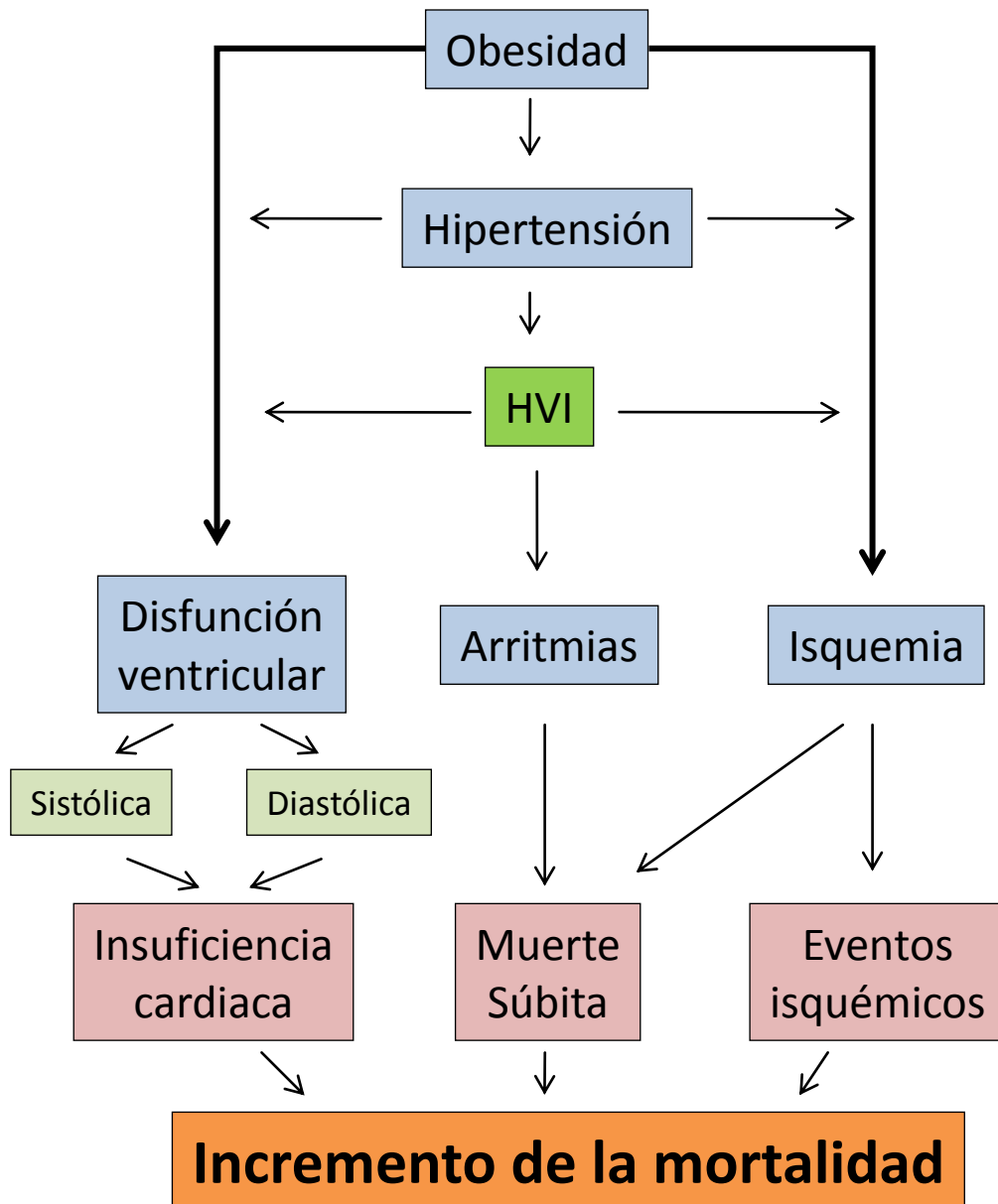


Figura 9. Factores de riesgo y consecuencias de la hipertrofia ventricular izquierda. HVI: Hipertrofia ventricular izquierda.



#### **4. METABOLISMO MINERAL.**

##### **Fisiología del Calcio y el Fosfato.**

El calcio interviene en funciones orgánicas diversas, tanto a nivel intracelular como extracelular. Entre las funciones intracelulares podríamos mencionar su papel en la contracción muscular, en la actividad de la célula nerviosa, en los procesos secretorios mediante exocitosis, incluyendo la secreción de hormonas, o en la activación de enzimas diversos. Entre las funciones del calcio a nivel extracelular destaca, por ejemplo, su papel en la coagulación sanguínea, en el mantenimiento y estabilidad de las membranas celulares o en el de la integridad estructural de huesos y dientes.

El fosfato inorgánico representa la fuente de fosfato sanguíneo para huesos y dientes y forma parte del sistema tampón del pH de la sangre. El fosfato orgánico, por otra parte, es una parte importante de la célula, tanto a nivel de la membrana plasmática como integrado en moléculas de la importancia del ATP, el AMPc o los ácidos nucleicos.

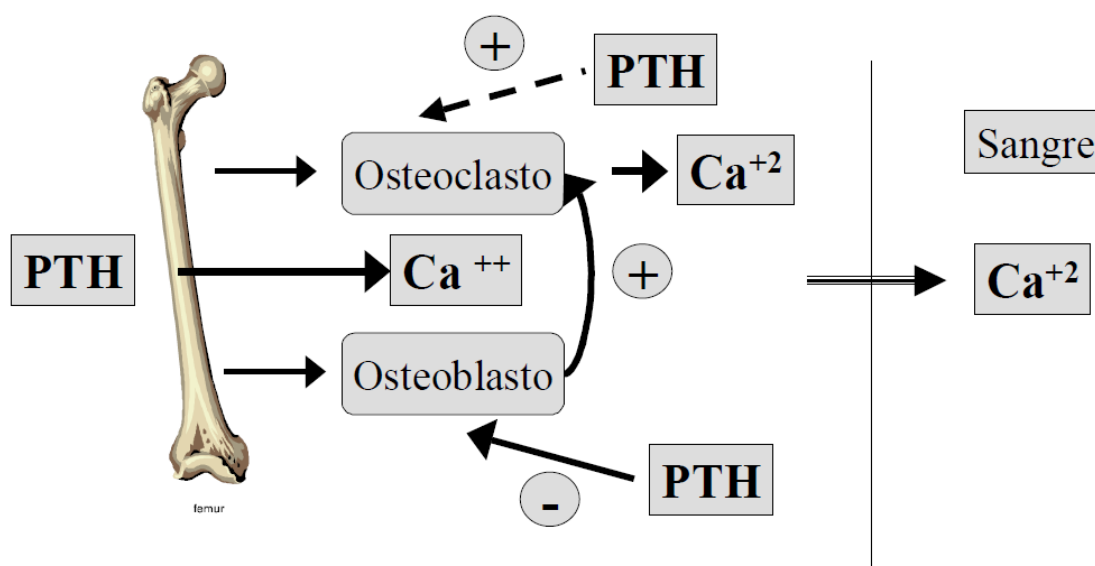
En la regulación de los niveles orgánicos de calcio y fósforo intervienen, fundamentalmente, la parathormona u hormona paratiroidea, la calcitonina la vitamina D y el FGF-23.

##### **Hormona paratiroidea o parathormona.**

La hormona paratiroidea o parathormona (PTH) se sintetiza en la glándula paratiroides y su principal función se relaciona con el aumento en los niveles sanguíneos de calcio. La PTH es un polipéptido de 84 aminoácidos que, inicialmente se sintetiza en forma de pre-pro-PTH en los ribosomas de las células paratiroides como una molécula de 115 aminoácidos. En su conducción a lo largo del retículo

endoplasmático se escinde un fragmento aminoterminal y se transforma en pro-hormona. Finalmente, una proteasa específica elimina 6 aminoácidos y da lugar a la PTH, que se almacena en los gránulos de secreción del aparato de Golgi hasta que es liberada a la sangre.

La PTH actúa sobre el hueso activando el RANKL (Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand) en los osteoblastos que a su vez estimula la absorción de hueso mediada por osteoclastos, lo que conlleva un aumento de los niveles plasmáticos de calcio iónico (**Figura 10**).



**Figura 10.** Acciones de la Paratohormona sobre el hueso. PTH: paratohormona.

Las acciones de la PTH sobre el riñón se esquematizan en la **Figura 11**; básicamente produce una pérdida rápida e inmediata de fosfato por la orina, debido a la disminución de la reabsorción tubular proximal de iones fosfato así como un aumento de la absorción de Calcio en las ramas ascendentes del asa de Henle y túbulos distales.

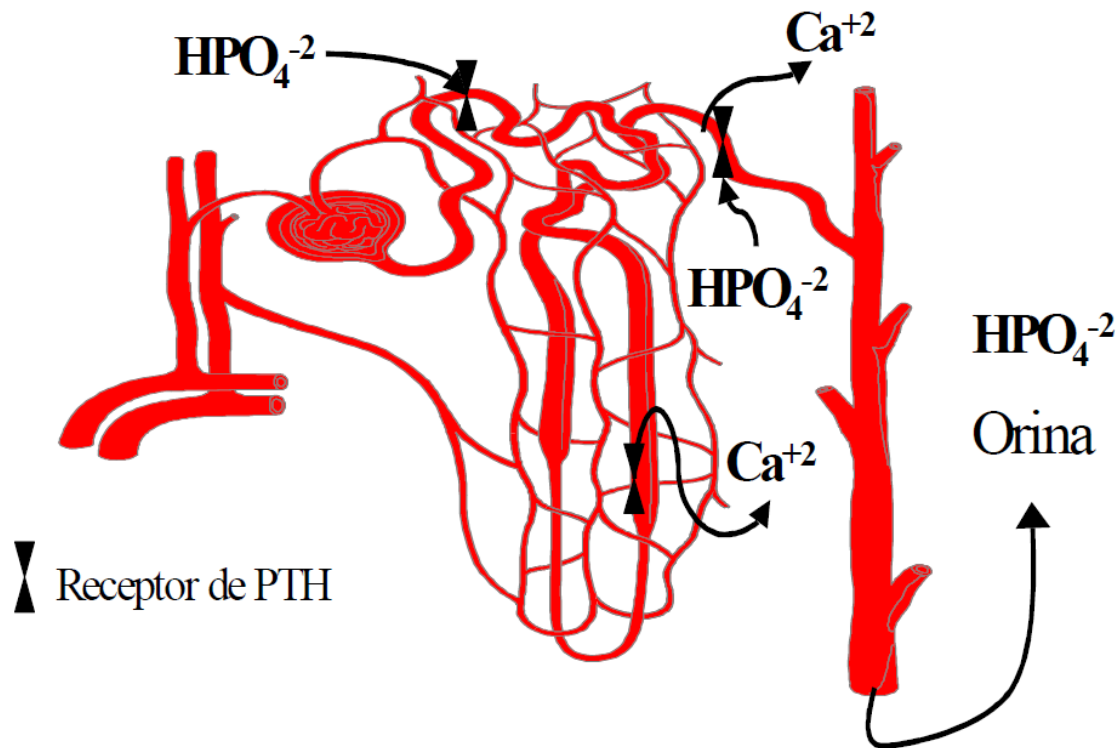


Figura 11. Acciones de la Paratohormona sobre el riñón. PTH: paratohormona.

La acción de la PTH en el intestino está mediada por la vitamina D. La PTH incrementa la síntesis de 1,25-dihidroxicolecalciferol en el riñón y por esta vía se potencia la absorción de calcio a nivel intestinal. (215)

### Vitamina D

El organismo produce la vitamina D cuando la piel se expone directamente al sol a partir del 7-dehidrocolesterol (sintetizado en el hígado) transformándose en colecalfiferol o vitamina D3.

Muy pocos alimentos contienen vitamina D de manera natural. Los pescados grasos (atún, salmón y caballa) están entre las mejores fuentes de vitamina D. El aceite de hígado de bacalao, el queso y las yemas de los huevos suministran pequeñas cantidades. Los champiñones proporcionan algo de vitamina D.

En el plasma, la vitamina D circula ligada a una proteína fijadora de vitamina D, también llamada transcalfiferina, que es producida en el hígado. Es en este órgano donde el colecalciferol es hidroxilado y se transforma en 25-OH-colecalciferol, forma parcialmente activa que circula en plasma con una vida media de unos 15 días. En el riñón la 25-OH-vitamina D es hidroxilada de nuevo para dar lugar a la forma más activa de la vitamina, el 1,25-dihidroxicolecalciferol. La enzima hidroxilasa responsable de este último paso aumenta cuando disminuye la calcemia y se libera PTH, por lo que podemos afirmar que la PTH y la vitamina D tienen acciones sinérgicas sobre los niveles de calcio en sangre.

Las funciones de la vitamina D se llevan a cabo fundamentalmente en los mismos órganos diana que la PTH, es decir, en el intestino, hueso y riñón.

En el riñón, la vitamina D facilita la reabsorción de calcio e incrementa la respuesta del túbulo a la acción de la PTH.

En el intestino el 1,25- dihidroxicolecalciferol promueve la absorción del calcio intestinal principalmente aumentando la formación de una proteína ligadora del calcio en las células epiteliales intestinales y también facilita la absorción de fosfatos.

En el hueso actúa, en presencia de PTH, estimulando la diferenciación de los osteoclastos y, por tanto, la resorción ósea, posibilitando una mineralización adecuada. (215)

### Calcitonina

La calcitonina, producida en las células C del tiroides, actúa directamente sobre receptores de los osteoclastos. Su papel fisiológico es controvertido. Se ha demostrado que situaciones en las que se produce un aumento en su secreción (carcinoma medular del tiroides) o en las que hay ausencia de células C (tiroidectomía total) la

calcemia se mantiene en niveles normales y no hay alteraciones óseas. Sin embargo, a dosis farmacológicas, la calcitonina posee una actividad inhibidora de la reabsorción ósea al reducir el número y la actividad de los osteoclastos, por lo que se puede considerar una hormona protectora del tejido óseo.

### *Factor de crecimiento de fibroblastos 23.*

El factor de crecimiento de fibroblastos 23 (FGF-23) se produce principalmente por osteocitos y osteoblastos en el hueso, pero también por las glándulas salivales, el estómago y, en concentraciones mucho más bajas, por el músculo esquelético, el cerebro, la glándula mamaria, el hígado y el corazón. En los humanos, el gen FGF23, localizado en el cromosoma 12 y compuesto por 3 exones separados por 2 intrones, codifica una glucoproteína de 32 kDa que contiene 251 residuos de aminoácidos. En el torrente sanguíneo, la proteína FGF23 circula en dos formas distintas: una forma madura larga ( $^{25}\text{-FGF23}^{251}$ ) y una forma más corta ( $^{25}\text{-FGF23}^{179}$ ) con 72 aminoácidos menos en el extremo COOH-terminal. Sin embargo, sólo la forma larga del FGF23 es activa, pues el dominio COOH-terminal es esencial para la activación de la cascada de señalización intracelular.

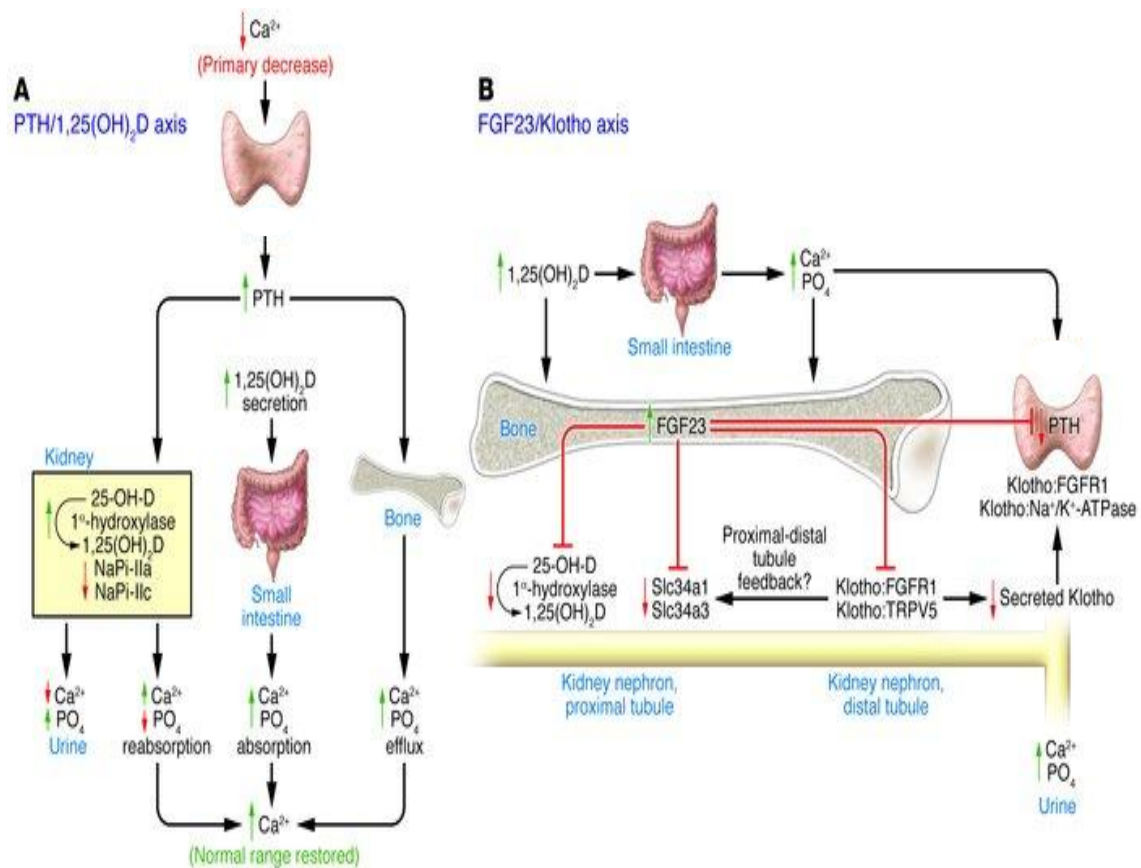
El descubrimiento de osteoblastos y osteocitos como los principales sitios de producción y secreción de FGF23 identificó al hueso no sólo como el mayor reservorio de calcio y fosfato, sino también como un órgano endocrino que se comunica con otros tejidos involucrados en la homeostasis mineral. El FGF23 secretado por el hueso actúa principalmente en el riñón para regular el manejo renal del fosfato y el metabolismo de la vitamina D. Las acciones del FGF-23 se realizan al unirse al receptor de membrana FGFR. Para esta unión precisa una proteína transmembrana

denominada Klotho. Esta proteína entre otras muchas funciones parece la encargada de la sensibilidad del organismo a la insulina y se ha relacionado con el envejecimiento.

El eje FGF23 hueso/riñón tiene al menos dos funciones fisiológicas:

- Proporcionar una señal fosfatúrica que emana del hueso para coordinar el flujo óseo de fosfato debido a alteraciones en el recambio y la mineralización en el hueso con conservación renal de fosfato.
- Proporcionar al organismo una hormona contrarreguladora de los efectos adversos de la exposición excesiva de vitamina D.

Los niveles de 1,25-dihidroxicolecalciferol son los principales reguladores del FGF-23. Esto constituye un círculo hormonal clásico: incrementos de 1,25-dihidroxicolecalciferol → incrementa FGF23 → disminuye 1,25-dihidroxicolecalciferol. La sobrecarga de fosfato en ratones incrementa los niveles de FGF-23 pero la magnitud de este incremento es limitado en humanos comparado con la regulación relacionada con los niveles de vitamina D. El FGF-23 también se eleva en la insuficiencia renal y en estos casos sí se correlaciona con el grado de hiperfosfatemia (216).



**Figura 11. Interrelaciones entre FGF23, PTH, 1,25 (OH) 2D, y Klotho.** (A) El Eje PTH / 1,25 (OH) 2D. La principal función de este eje es regular la homeostasis del calcio. Cuando disminuyen los niveles séricos de calcio se estimula la secreción de PTH que hace que el riñón reduzca la excreción urinaria de calcio, estimula la actividad 1 $\alpha$ -hidroxilasa, y aumentar la excreción fraccional de fosfato (PO<sub>4</sub>), y se dirige a los huesos a aumentar la reabsorción de calcio y fosfato. El aumento resultante de la 1,25 (OH) 2D se dirige el tracto gastrointestinal para aumentar la absorción de calcio, que suprime la PTH. (B) El eje FGF23 / Klotho. El FGF23 producido por el hueso se dirige principalmente al riñón, lo que conduce a reducciones del fosfato sérico y de 1,25 (OH) 2D mediante la estimulación de la excreción de fosfato y la reducción de la actividad 1 $\alpha$ -hidroxilasa (217)

### Efectos no calciotropos de la Vitamina D.

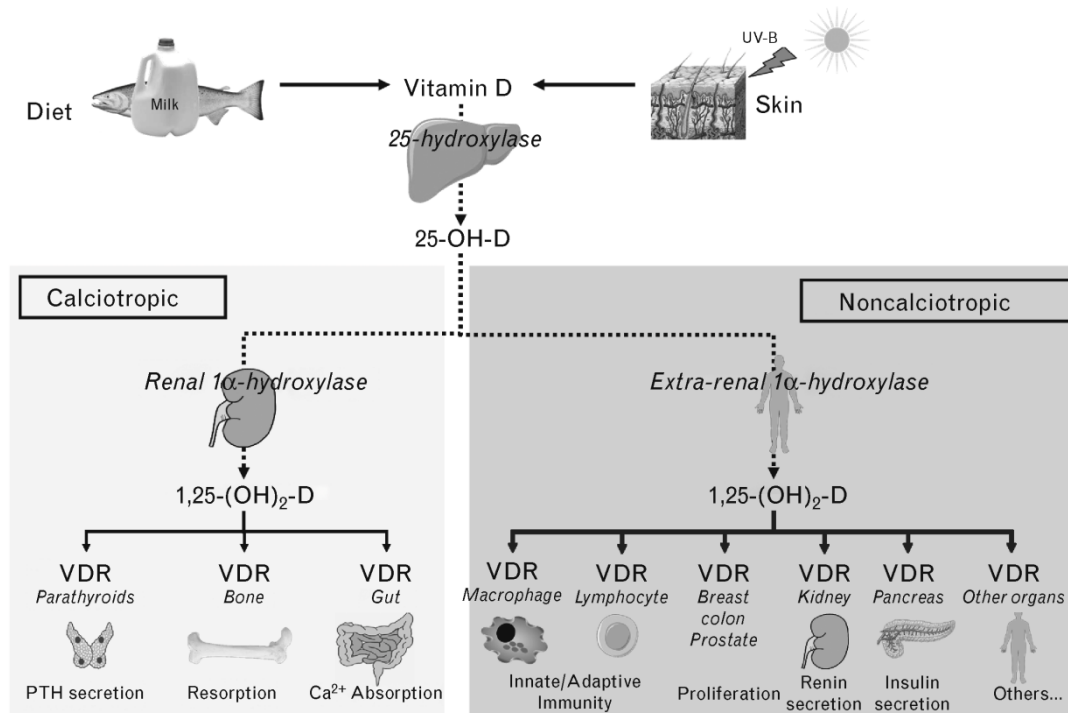
La molécula fisiológicamente activa de la Vitamina D (1,25-(OH)<sub>2</sub>-D) realiza sus acciones por la unión sobre el receptor de la Vitamina D (VDR). Este receptor se ha identificado en una gran variedad de tejidos, lo que ha llevado a reconocer una gran

relación de actividades no calciotrópicas de la vitamina D (218) (**Figura 11**). Entre estos efectos no calciotropos de la vitamina D se encuentran:

- Protección frente a infecciones. Ya en 1849 se describió, de manera indirecta, por parte de Williams un papel de la Vitamina D potencialmente beneficioso en el tratamiento de la tuberculosis que observó que la administración de aceite de hígado de bacalao (una gran fuente de Vitamina D) en pacientes con tuberculosis pulmonar era “más beneficioso. . . que cualquier agente medicinal, dietético o estilo de vida empleado hasta ahora” (219). Así se ha constatado que los pacientes con raquitismo tienen dañada la función fagocítica de los macrófagos (220) y podría ser reversible con la adicción de 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D (221).
- Relación con la autoinmunidad. Estudios epidemiológicos han relacionado la exposición limitada al sol y el escaso consumo de vitamina D con una mayor incidencia de enfermedades autoinmunes. Así, por ejemplo, se sabe que la prevalencia de esclerosis múltiple aumenta con la mayor latitud tanto norte como sur (222) y que la niveles de calcidiol eran más bajos en pacientes recientemente diagnosticados de lupus que en controles (223).
- Modulación de la hiperproliferación celular tanto benigna como maligna. Este efecto fue clínicamente aplicado con el uso de Calcipotriol (un análogo sintético del 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D) como primera línea de tratamiento de la psoriasis (caracterizada por hiperproliferación de keratinocitos). Además se han descrito relaciones inversas entre la exposición a la luz solar y el consumo de suplementos de vitamina D y el riesgo de varios cánceres como el de colon, próstata, mama y páncreas (224-227).



- Por último, se ha asociado la vitamina D con una serie de efectos beneficiosos a nivel cardiovascular que describiremos en la siguiente sección.



**Figura 12.** Esquema que muestra las funciones calcitropas del 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D y los efectos no calcitropas de la Vitamina D por estimular otros órganos que también expresan el receptor de la vitamina D (VDR) (218).

### Efectos cardiovasculares de la activación del receptor de la Vitamina D.

Desde los años 90 se conoce la relación que existe entre la calcificación coronaria extensa y los niveles bajos de Vitamina D (228) y se ha documentado también una relación inversa entre los niveles de vitamina D y la incidencia de HTA (227). Además, se ha evidenciado una asociación independiente de los niveles bajos de vitamina D con todas las causas de mortalidad cardiovascular (230,231).

Por este motivo se postuló que la activación de los VDR podría ser beneficiosa para evitar el desarrollo de enfermedades cardiovasculares. Existen diferentes tratamientos para activar el VDR. El calcitriol (1,25-(OH)<sub>2</sub>-D) es la molécula endógena activa. Existen moléculas que precisan de activación renal o hepática (ergocalciferol, colecalciferol, calcidiol,...) y otras moléculas que activan directamente el VDR como son el paricalcitol y el maxacalcitol (232). Se ha demostrado en distintos estudios que la activación del VDR mediante paricalcitol protege de la calcificación vascular en animales de investigación con insuficiencia renal (233,234). Además el paricalcitol disminuye la expresión de genes relacionados con la aterosclerosis (235).

En ratas el paricalcitol previene la progresión de la HVI y el desarrollo de insuficiencia cardíaca (236-238). Sin embargo, el ensayo clínico PRIMO no pudo demostrar una reducción de la HVI en pacientes con HTA, insuficiencia renal y PTH entre 150-300 pg/ml pero redujo las cifras de BNP y las hospitalizaciones de causa cardiovascular (240).

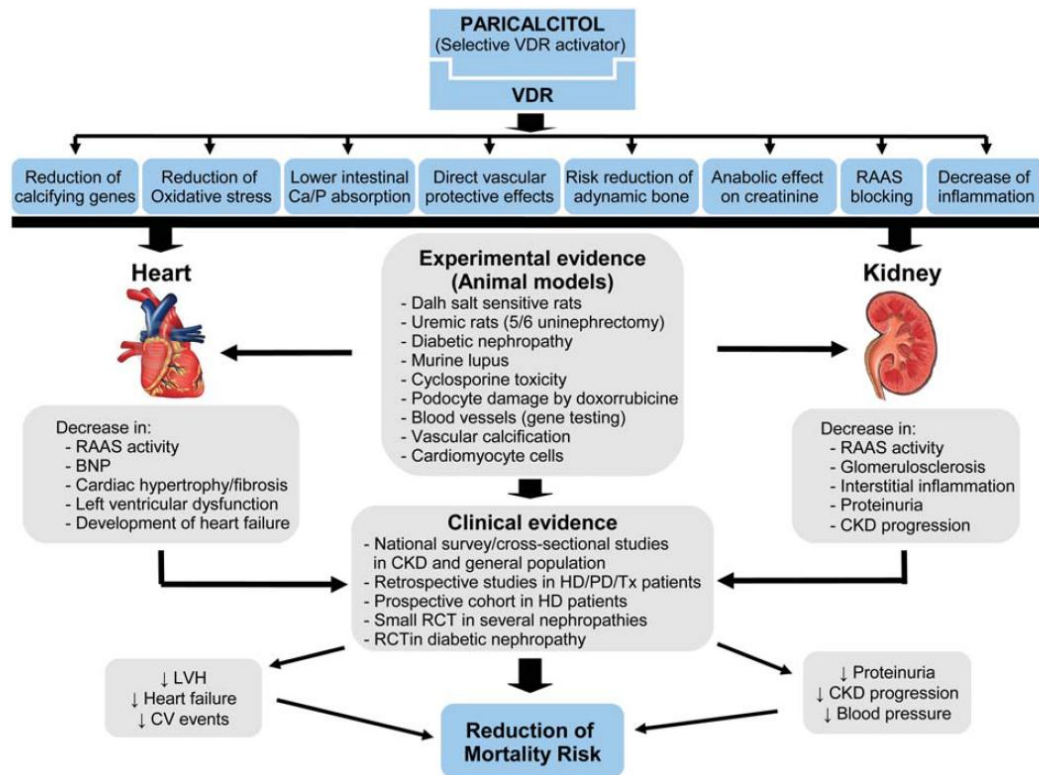


Figura 13 Mecanismos de protección cardíaca y nefroprotección del paricalcitol con evidencia clínica y experimental. BNP: péptido natriurético cerebral; Ca: calcio ; CKD:chronic kidney disease; CV: cardiovascular; HD: hemodiálisis ; LVH, left ventricular hypertrophy; P: fósforo; PD: diálisis peritoneal;RAAS: sistema renina - angiotensina - aldosterona; RCT: randomized clinical trial; TX: trasplante renal; VDR: receptor de la vitamina D (232).

### Efectos colaterales del FGF-23.

Los niveles de FGF-23 aumentan progresivamente según el filtrado glomerular disminuye y este descenso aparece ya desde estadios iniciales de la insuficiencia renal (241-244). Esta sería la alteración del metabolismo mineral más precoz en la insuficiencia renal y sería la que condicionaría los mecanismos compensadores posteriores (Figura 14).

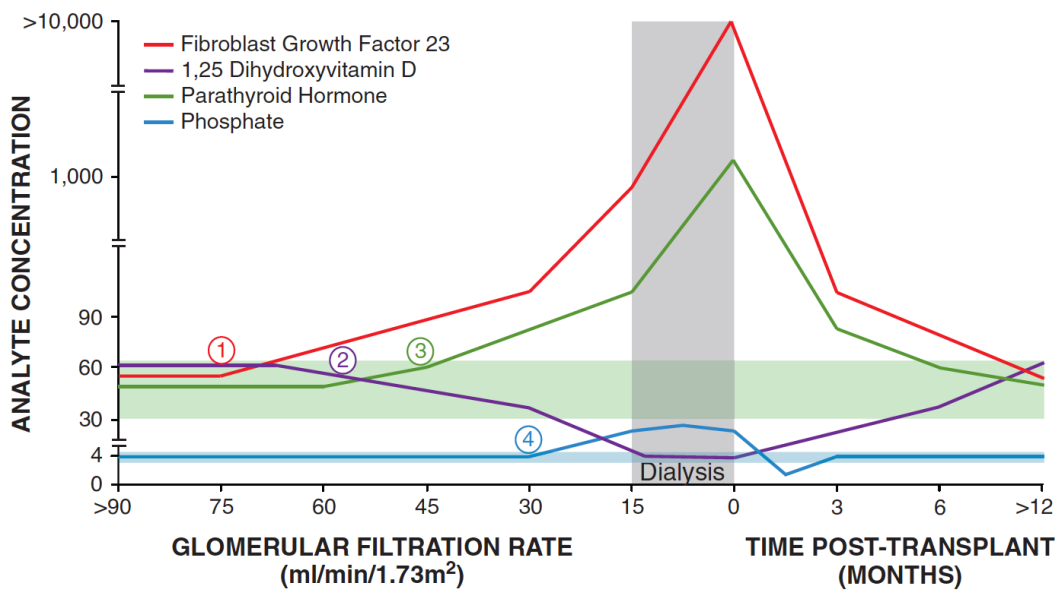


Figura 14. Evolución temporal del metabolismo del fósforo en la insuficiencia renal. 1: Incremento inicial del FGF-23 como primera alteración del metabolismo mineral en la insuficiencia renal. 2: lo que conlleva un déficit precoz de 1,25 (OH)<sub>2</sub> D, 3: y un aumento de PTH secundario. 4: Estos cambios ocurren antes de que la elevación de fósforo sea evidente (245).

En estudios prospectivos en pacientes con insuficiencia renal los niveles de FGF-23 se asociaron con progresión de la insuficiencia renal (246). Entre los pacientes en diálisis los niveles altos de FGF-23 presentaban una asociación independiente con la mortalidad (247,248). Un trabajo publicado en 2012 mostró que los pacientes en prediálisis con niveles plasmáticos reducidos de vitamina D y elevados de FGF-23 tienen mayor probabilidad de duplicar la creatinina sérica o de entrar en un programa de diálisis (249). Del mismo modo, un estudio llevado a cabo en pacientes con enfermedad renal crónica avanzada mostraron que los niveles bajos de vitamina D en plasma se asociaron con la muerte y el inicio de la diálisis a largo plazo, pero los niveles bajos de FGF-23 atenuaba esta relación (250). Dado que la principal causa de muerte en pacientes en insuficiencia renal es la enfermedad cardiovascular, se estableció como probable la relación entre niveles elevados de FGF-23 y riesgo cardiovascular

(Figura 15) y varios estudios confirmaron esta tesis. En una población en pacientes en prediálisis y pacientes sanos aquellos que tenían niveles más altos de FGF-23 presentaban mayor prevalencia de HVI (251). También se evidenció en una población anciana con función renal preservada que los niveles plasmáticos elevados de FGF-23 se asociaban con disfunción endotelial (252,253).

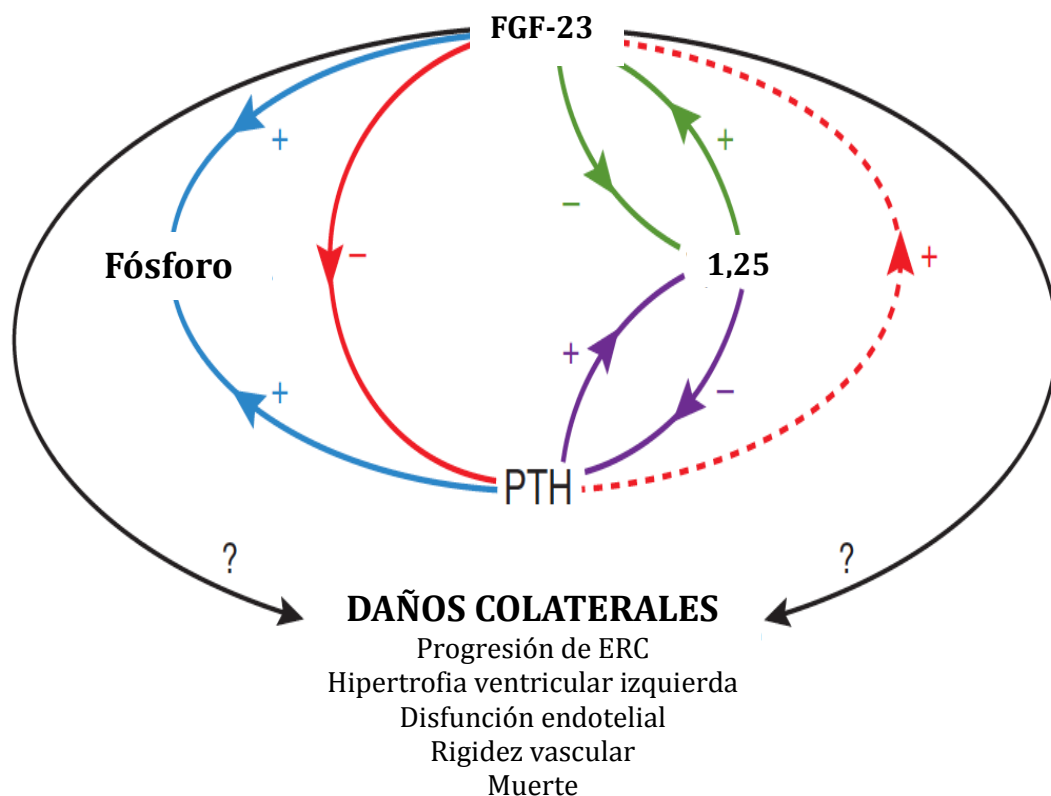


Figura 15. Efectos fisiológicos del FGF-23 y daños colaterales por activación de receptores en células cardíacas, arteriales y renales (245). ERC: Enfermedad renal Crónica; PTH: Paratohormona.

A pesar de las relaciones que se han establecido entre las alteraciones del metabolismo mineral y el pronóstico de los pacientes con enfermedad renal crónica, en el momento actual no existen estudios que nos muestren la prevalencia de las alteraciones del metabolismo mineral en pacientes con cardiopatía isquémica crónica

independientemente de su función renal y si estas alteraciones tienen alguna relación con el pronóstico de estos enfermos. Similarmente, no se conoce si la coexistencia de niveles bajos de vitamina D y altos de FGF-23 implican peor pronóstico en el campo cardiovascular. Además, no sabemos las relaciones que pueden existir entre los niveles plasmáticos de vitamina D, FGF-23 y PTH y el desarrollo de HVI.

## **5. RECAPITULACIÓN**

La enfermedad coronaria tiene un enorme impacto en nuestro medio por su gran incidencia, la morbilidad que asocia y la ingente cantidad de recursos de todos los órdenes que consume.

En los últimos años se ha visto que las alteraciones del metabolismo mineral se asocian a daño cardiovascular, se han relacionado con los eventos cardiovasculares y con el desarrollo de HVI en pacientes con insuficiencia renal. Sin embargo, los datos en pacientes con enfermedad cardiovascular previa y función renal normal no son tan claros. Así, no se conoce la prevalencia de alteraciones del metabolismo mineral en esta población. Tampoco se ha visto si, al igual que sucede en la insuficiencia renal, en pacientes coronarios la coexistencia de niveles plasmáticos disminuidos de vitamina D y aumentados de FGF-23 implican mal pronóstico. Por último, en este tipo de pacientes no está bien definido la relación la relación entre la existencia de HVI y las alteraciones del metabolismo mineral.

## HIPÓTESIS

1. Entre los pacientes con cardiopatía isquémica crónica existe una elevada prevalencia de alteraciones en los niveles plasmáticos de Calcidiol, Paratohormona y FGF-23.
2. Las alteraciones en los niveles plasmáticos de Calcidiol, Paratohormona, y FGF-23 pueden aparecer incluso en pacientes sin alteraciones significativas del filtrado glomerular renal.
3. Los niveles plasmáticos bajos de Calcidiol, y elevados de Paratohormona, FGF-23 y fósforo son predictores independientes de eventos adversos en pacientes con cardiopatía isquémica crónica.
4. Los niveles plasmáticos de Calcidiol, Paratohormona, FGF-23 y/o fósforo tienen relación con el desarrollo de hipertrofia de ventrículo izquierdo en pacientes con cardiopatía isquémica crónica.



## OBJETIVOS

1. Conocer la prevalencia de las alteraciones del metabolismo mineral en pacientes con cardiopatía isquémica crónica.
2. Establecer la relación entre las alteraciones del metabolismo mineral y el filtrado glomerular renal estimado en pacientes con cardiopatía isquémica crónica.
3. Estudiar si los niveles plasmáticos de Calcidiol, Paratohormona, FGF-23 y/o fósforo son predictores independientes del desarrollo de eventos adversos en pacientes con cardiopatía isquémica crónica.
4. Estudiar si los niveles plasmáticos de Calcidiol, Paratohormona, FGF-23 y/o fósforo son predictores independientes del desarrollo de hipertrofia ventricular izquierda en pacientes con cardiopatía isquémica crónica.

# MÉTODOS

## Pacientes

El estudio BACS-BAMI (Biomarkers in acute coronary síndrome and biomarkers in acute myocardial infarction) incluía pacientes ingresados en cuatro hospitales de Madrid , ya sea con Síndrome Coronario Agudo sin elevación del ST (SCASEST) o Infarto agudo de miocardio con elevación del ST (IAMCEST). El SCASEST se define como angina de pecho de reposo que dura más de 20 minutos en las últimas 24 horas, o aparición de angina de esfuerzo en clase funcional III- IV , junto con depresión transitoria del ST o inversión de la onda T en el electrocardiograma validado por un cardiólogo y/o elevación de troponina. IAMCEST se definía como síntomas compatibles con angina durante más de 20 minutos junto a elevación del segmento ST en dos derivaciones contiguas en el electrocardiograma sin respuesta a la nitroglicerina y elevación de troponina.

Los criterios de exclusión fueron: edad mayor de 85 años , coexistencia de otros trastornos cardiacos significativos excepto HVI secundaria a hipertensión, la coexistencia de cualquier enfermedad o hábitos tóxicos que pudiera limitar la supervivencia del paciente, la imposibilidad de efectuar la revascularización en caso de indicación, y aquellos sujetos en los que el seguimiento no era posible.

A fin de evitar la variabilidad de los resultados debido a una excesiva heterogeneidad en el intervalo entre el evento agudo y la extracción de sangre, los investigadores acordaron excluir a los pacientes que no estaban clínicamente estables el sexto día después del evento índice.

Además de la extracción de plasma al alta, en una segunda visita ambulatoria entre seis y doce meses más tarde se obtenía una segunda muestra de plasma junto con variables clínicas, cuando los pacientes estaban estables. El presente trabajo es un subestudio del BACS-BAMI basado en los datos obtenidos en esta última visita y en el seguimiento a partir de la misma.

Entre julio de 2006 y abril de 2010, 1.898 pacientes fueron dados de alta de los hospitales del estudio con el diagnóstico de SCASEST o IAMCEST. Ochocientos treinta y ocho pacientes fueron incluidos en el estudio. El resto de los pacientes no fueron incluidos debido a las siguientes: edad mayor de 85 años (17,3 %) , la presencia de comorbilidad o hábito tóxico que limitara la supervivencia (29,0 %) , imposibilidad de realizar revascularización cardíaca (14,5 %), la coexistencia de otra cardiopatía significativa (6,8 %), la imposibilidad de realizar el seguimiento (12,0 %), presencia de inestabilidad clínica más allá del sexto día después del evento inicial (9,1 %), la negativa a participar en el estudio (2,0 %), y la imposibilidad de los investigadores en incluirlos (9,3 %). De los 838 pacientes incluidos en la fase aguda, 7 murieron antes de la segunda visita, y 709 tenían adecuadas muestras de plasma extraídas de seis a doce meses después de ser dados de alta. Estos pacientes fueron incluidos en el presente subestudio.

La extracción de plasma y las visitas de inclusión tuvieron lugar entre Enero de 2007 y Febrero de 2011. Las últimas visitas de seguimiento fueron llevadas a cabo en Mayo de 2012.

## **Declaración Ética**

El protocolo de investigación se ajusta a las directrices éticas de la Declaración de Helsinki de 1975 y fue aprobado previamente por los comités éticos de investigación en humanos en los centros participantes en este estudio: Fundación Jiménez Díaz, Hospital Fundación Alcorcón, Hospital de Fuenlabrada y el Hospital Universitario de Móstoles. Todos los pacientes firmaron el documento de consentimiento informado previamente a iniciar el estudio.

## **Diseño del estudio**

Inicialmente se registraron las variables clínicas y se extrajeron en tubos de EDTA las muestras de sangre venosa con 12 horas de ayuno. Las muestras de sangre se centrifugaron a 2500 rpm durante 10 minutos y el plasma se almacenó a -80°C. El seguimiento de los pacientes se realizó cada año en sus respectivos hospitales. Al final del seguimiento (máximo 4,6 años) se revisaron las historias clínicas y se confirmó el estado del paciente mediante contacto telefónico.

Se consideró evento adverso a la combinación de eventos isquémicos agudos (SCAEST IAMCEST, accidente cerebrovascular y ataque isquémico transitorio) más insuficiencia cardíaca y mortalidad por cualquier causa. SCAEST y IAMCEST fueron definidos como se explica más arriba. El diagnóstico de infarto de miocardio pasado fue realizado con la aparición de nuevas ondas Q patológicas en el electrocardiograma, junto con la aparición de una nueva cicatriz miocárdica concordante ya sea por ecocardiografía o resonancia magnética nuclear. El accidente cerebrovascular se definió como la rápida aparición de un déficit neurológico atribuible a una causa

vascular focal de más de 24 horas o la aparición de nuevas lesiones isquémicas cerebrales en los estudios de imagen. Un ataque isquémico transitorio se definió como un accidente cerebrovascular con signos y síntomas y resolución antes de 24 horas y ausencia de lesiones cerebrales isquémicas agudas en las técnicas de imagen. La insuficiencia cardíaca fue diagnosticada de acuerdo a las guías de práctica clínica (254). Los eventos fueron corroborados por al menos dos investigadores del estudio, junto con un neurólogo cuando se trataba de eventos cerebrovasculares. Aunque se registraron todos los eventos, los pacientes fueron excluidos del análisis de regresión de Cox después de desarrollar el primer evento. Por lo tanto, aunque se describen el número total de eventos, aquellos pacientes que tenían más de un evento fueron contabilizados una sola vez para estos análisis.

### **Estudios analíticos de biomarcadores**

Las determinaciones analíticas de plasma se realizaron en el laboratorio de Nefrología en el Hospital Gómez –Ulla y en el Laboratorio de Bioquímica de la Fundación Jiménez Díaz. Los investigadores que realizaron los estudios de laboratorio no tenían conocimiento de los datos clínicos. Los niveles plasmáticos de calcidiol se cuantificaron por inmunoensayo de quimioluminiscencia (CLIA) en el analizador ENLACE XL (LIAISON 25OH-Vitamin D total Assay DiaSorin, Saluggia, Italy), los de FGF - 23 se midieron mediante un ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas que reconoce epítomos dentro de la porción carboxilo-terminal del FGF-23 (Human FGF-23, C-Term, Immutopics Inc, San Clemente, CA), los niveles plasmáticos de parathormona intacta fueron analizados por un método de segunda generación de

quimioluminiscencia automatizado (Elecsys 2010 platform, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), se determinaron los niveles de fosfato mediante un método enzimático (Integra 400 analyzer, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), y los niveles de proteína C reactiva de alta sensibilidad se evaluó mediante un análisis de inmunoturbidimetría látex mejorada (ADVIA 2400 Chemistry, Siemens, Alemania). Los lípidos, las determinaciones de glucosa, de calcio, de albumina y de creatinina fueron realizadas por métodos estándar (ADVIA 2400, Siemens, Alemania).

### **Imágenes ecocardiográficas**

La evaluación ecocardiográfica transtorácica bidimensional se realizó de acuerdo a un protocolo ecocardiográfico estandarizado, utilizando una sonda de ultrasonidos iE33 o un Sonos 5500 (Philips Medical Systems ) por ecografistas experimentados. Las mediciones del diámetro diastólico del ventrículo izquierdo y el grosor del septo interventricular (SIV) se obtuvieron en telediástole siguiendo las recomendaciones de la Sociedad Americana de Ecocardiografía (255). La HVI se definió como  $SIV \geq 11$  mm. La fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) se calculó a partir de los planos apicales de 4 y 2 cámaras utilizando el método de Simpson. En los pacientes con mala ventana acústica se hizo una evaluación cualitativa de la FEVI.

### **Análisis estadístico**

Las variables cuantitativas que seguían una distribución normal (test de Kolmogorov-Smirnov) se presentan como media y desviación standard, las que no

estaban distribuidas normalmente se mostraron como mediana y rango de intercuartiles y las variables cualitativas se presentan como porcentajes. Además, las correlaciones entre variables cuantitativas se evaluaron con el coeficiente rho de Spearman.

El calcidiol fue evaluado como variable cuantitativa y dada la existencia de cuatro categorías clínicamente relevantes (256), esta variable se estudió también utilizando estas categorías: 0,00 a 10,00 ng/ml (deficiencia grave) , 10,01 a 20,00 ng/ml (deficiencia moderada), 20,01- 30,00 ng/ml (insuficiencia/niveles subóptimos), y superiores a 30,00 ng/ml (niveles óptimos).

Para realizar correlaciones se realizó un test de Pearson y aquellas variables claramente asimétricas fueron transformadas en logaritmos. Se realizaron modelos multivariantes de test de regresión lineal para identificar factores asociados de manera independiente a los niveles plasmáticos de PTH o FGF23. Los resultados se expresaron como coeficientes e intervalo de confianza del 95%, valor de la  $p$  y valor de la  $r$ .

En el análisis univariado, la asociación de eventos adversos con las categorías de calcidiol y FGF -23 fue resumido en las curvas de Kaplan-Meier. Las diferencias de las características basales de los pacientes que presentaban eventos adversos en comparación con aquellos sin eventos fueron evaluados utilizando el test de la Chi cuadrado o el test exacto de Fisher para datos cualitativos. Para las variables cuantitativas, se realizó la prueba de la  $t$  de Student para aquellas que siguen una distribución normal, y el test de Mann-Whitney se utilizó en aquellas que no están distribuidas normalmente. Todas aquellas variables que mostraron diferencias estadísticamente significativas en estas pruebas se introdujeron en un modelo de Cox multivariable.

Las variables clínicas y analíticas que mostraron diferencias en pacientes con y sin HVI, se introdujeron en un análisis de regresión logística, donde la variable dependiente fue la presencia de HVI.

Los análisis se realizaron con SPSS 19.0 [SPSS Inc., Nueva York y “ 3.0.1 ([www.r-project.org](http://www.r-project.org))] , y se consideraron significativos cuando el valor de la “p” fue inferior a 0,05 (dos colas).



## RESULTADOS

De los 709 pacientes incluidos en el estudio se perdieron cinco pacientes durante el seguimiento, obteniéndose 704 casos para el análisis. El tiempo desde el último evento coronario agudo, hasta la extracción de plasma y el inicio de seguimiento fue de  $7,5 \pm 3,0$  meses.

La edad media fue de  $61,4 \pm 12,3$  años y 530 (75,3%) pacientes fueron varones. El resto de parámetros epidemiológicos y analíticos se encuentran en **Tabla 1**. Cuatro pacientes (0,6%) estaban tomando suplementos de Vitamina D y ninguno tomaba quelantes del fósforo ni cinacalcet (medicamento calcimimético que actúa sobre el receptor sensible al calcio situado en la superficie de la célula principal de la paratiroides).

**Tabla 1. Características basales de los pacientes.**

Variable	N=704
Edad (años)	61,4 ± 12,3
Varones (%)	75,3
Raza Caucásica (%)	97
Fumador activo (%)	6,5
Diabetes (%)	24,6
Hipertensión (%)	65,1
Dislipemia (%)	59,1
Índice de masa corporal (Kg/m <sup>2</sup> )	28,41 (25,71-30,91)
Eventos cerebrovasculares previos (%)	3,4
Enfermedad arterial periférica previa (%)	3,8
Fibrilación auricular (%)	4,8
FEVI <40%	11,8
<b>TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO</b>	
Aspirina (%)	91,6
Clopidogrel (%)	67,8
Acenocumarol (%)	5,8
Estatinas (%)	87,6
Antidiabéticos orales (%)	17,8
Insulina (%)	6,4
IECAs (%)	55,3
ARA II (%)	16,5
Betabloqueantes (%)	76,4
Verapamilo (%)	0,4
Diltiazem (%)	3,3
Dihidropiridinas (%)	16,6
Digoxina (%)	0,4
Diuréticos (%)	19,3
<b>DATOS DEL ÚLTIMO EVENTO CORONARIO</b>	
IAMCEST/SCASEST (%)	38,6/61,4
Número de vasos enfermos	1 (1 - 2)
Revascularización completa en el último SCA	65,4
<b>DATOS ANALÍTICOS</b>	
FGRe (CKD-EPI) (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	75,8±19,1
Glucosa (mg/dl)	100 (91,0 - 115,0)
HDL colesterol (mg/dl)	42 (36,0 - 49,0)
LDL colesterol (mg/dl)	81,0 (66,0 - 96,0)
Triglicéridos (mg/dl)	111 (82,0 - 153,0)
Proteína C Reactiva alta sensibilidad (mg/dl)	1,96 (0,83 - 4,12)
Calcidiol (ng/ml)	19,6±8,2
Categoría de Calcidiol (%):	
≤10 ng/ml	10,9
10,01-20,0 ng/ml	46,4
20,01-30 ng/ml	32,3
>30,0 ng/ml	10,4
PTH (pg/ml)	59,7 (45,5-77,3)
FGF-23 (RU/mL)	69,9 (54,6-96,2)
Fósforo (mg/dl)	3,21±0,54

Tabla 1. Las variables cualitativas se expresan como porcentajes, las variables cuantitativas con distribución normal se muestran como media ± desviación estándar y aquellas con distribución no normal como mediana y rango de intercuartiles. ARAII: Antagonista de los receptores de la Angiotensina II;CKD-EPI: Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo;FGF-23: Fibroblast Growth Factor-23;FGRe: Filtrado Glomerular estimado; HDL: High-density lipoprotein;IAMCEST: Infarto Agudo de Miocardio con Elevación de ST; IECAS: Inhibidores de la Enzima Convertidora de la Angiotensina;LDL: Low-density lipoprotein; PTH: paratohormona; SCASEST: Síndrome Coronario Agudo Sin Elevación de ST.

### **Prevalencia de las alteraciones del metabolismo mineral**

La prevalencia de las alteraciones en el metabolismo mineral difería según el parámetro analizado. Mientras que sólo en 5pacientes (0,7%) se documentó hiperfosforemia, 200 pacientes (33,2%) presentaban niveles plasmáticos elevados de FGF-23 (> 85,5 RU/mL), 244 pacientes (34,9%) tenían niveles plasmáticos aumentados de paratohormona ( $\geq 74$  pg/ml) y en 631 pacientes (89,6%)se evidenció niveles subóptimos de Calcidiol ( $\leq 30$  ng/ml).

### **Relaciones entre la función renal y metabolismo mineral.**

El filtrado glomerular renal estimado medio calculado por la fórmula CKD-EPI era de  $75,8 \pm 19,1$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. 172 pacientes (24,4%) presentaban un FGRe>90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (G1), 389 pacientes (55,3%), tenían un FGRe entre 60 y 90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> (G2) y 143 pacientes (20,3%) tenían un FGRe<60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

Comparando las características basales de los pacientes en función de su FGRe, la edad, la incidencia de HTA, ictus, arteriopatía periférica y de fibrilación auricular aumentaban con el deterioro del FGRe, mientras que el porcentaje de varones disminuía y de FEVI<40% aumentaba. El porcentaje de pacientes de raza caucásica era mayor a medida que empeoraba la función renal. El resto de características se expresan en la **Tabla 2**.

Los niveles plasmáticos de Calcidiol, PTH, FGF-23 y Fósforo diferían entre las tres categorías de filtrado glomerular (G1,G2,G3-G5) (**Tabla 2**).Sin embargo, únicamente los niveles de PTHy FGF-23 cambiaban progresivamente según disminuía

**Tabla 2. Características basales de los pacientes de acuerdo con su categoría de FGRe y siguiendo la clasificación según FGRe de KDIGO.**

Variable	Categoría G1 FGRe $\geq$ 90 n = 172 (24,4%)	Categoría G2 FGRe 60-89 n = 389 (55,3%)	Categoría G3 -G5 FGRe $<$ 60 n = 143 (20,3%)	p
Edad (años)	51,4 $\pm$ 8,6	61,9 $\pm$ 11,1	72,1 $\pm$ 9,2	<b>&lt;0,001</b>
Varones (%)	83,7	77,9	58,0	<b>&lt;0,001</b>
Raza caucásica (%)	94,2	97,4	99,3	<b>0,023</b>
Fumador activo (%)	10,5	5,1	5,6	0,055
Diabetes (%)	23,3	22,9	30,8	0,155
Hipertensión (%)	48,3	65,8	83,2	<b>&lt;0,001</b>
Dislipemia (%)	58,1	58,6	61,5	0,796
Índice de masa corporal (Kg/m <sup>2</sup> )	28,5 $\pm$ 4,5	29,0 $\pm$ 4,6	28,1 $\pm$ 4,2	0,111
Eventos cerebrovasculares previos (%)	1,2	2,1	9,8	<b>&lt;0,001</b>
Enfermedad arterial periférica (%)	2,9	2,8	7,7	<b>0,027</b>
Fibrilación auricular (%)	1,2	4,1	11,2	<b>&lt;0,001</b>
FEVI < 40 (%)	9,3	10,0	19,6	<b>0,005</b>
<b>ULTIMO EVENTO CORONARIO</b>				
IAMCEST/SCASEST (%)	38,4/61,6	38,8/61,2	38,5/61,5	0,994
<b>PARAMETROS ANALÍTICOS</b>				
FGRe (CKD-EPI) (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	98,9 $\pm$ 6,2	76,1 $\pm$ 8,2	47,3 $\pm$ 10,6	<b>&lt;0,001</b>
Glucosa	110,3 $\pm$ 41,7	107,7 $\pm$ 30,8	111,7 $\pm$ 44,3	0,525
HDL (mg/dl)	42,6 $\pm$ 10,4	44,3 $\pm$ 10,8	44,1 $\pm$ 11,7	0,213
LDL (mg/dl)	85,7 $\pm$ 28,5	82,7 $\pm$ 23,7	81,3 $\pm$ 27,0	0,335
Triglicéridos (mg/dl)	112,5 (82,8 – 151,3)	106 (80,0 – 149,5)	119 (86,0 – 169,5)	0,138
Proteína C reactiva alta sensibilidad (mg/dl)	1,91 (0,88 – 3,67)	1,72 (0,78 – 3,71)	2,91 (1,20 – 6,13)	<b>&lt;0,001</b>
Calcidiol (ng/dl)	18,7 $\pm$ 7,5	20,4 $\pm$ 8,6	18,6 $\pm$ 8,0	<b>0,023</b>
Categoría de calcidiol (%)				0,055
≤10 ng/ml	10,6	10,1	13,3	
10,01 - 20,0 ng/ml	51,2	44,0	46,9	
20,01 - 30,0 ng/ml	33,5	32,1	31,5	
>30,0 ng/ml	4,7	13,7	8,4	
PTH (pg/dl)	54,2 (44,1 – 65,9)	58,0 (43,9 – 75,9)	75,2 (53,5 – 99,4)	<b>&lt;0,001</b>
PTH > 74 pg/ml (%)	19,4	33,7	56,6	<b>&lt;0,001</b>
FGF-23 (RU/dl)	65,7 (48,4 – 78,9)	68,1 (53,9 – 89,1)	98,5 (72,5 – 159,0)	<b>&lt;0,001</b>
FGF-23 > 85,5 RU/ml (%)	18,4	30,0	59,2	<b>&lt;0,001</b>
Fósforo (mg/dl)	3,25 $\pm$ 0,54	3,15 $\pm$ 0,51	3,30 $\pm$ 0,63	<b>0,018</b>
Fósforo > 4.5 mg/ml (%)	0	0,3	2,8	<b>0,011</b>
Cociente PTH/Fósforo	16,6 (12,5-21,9)	18,6 (13,7-24,6)	22,8 (16,0-32,4)	<b>&lt;0,001</b>
Cociente FGF-23/Fósforo	19,6 (15,6-26,0)	22,1 (17,4-29,5)	32,7 (22,5-48,1)	<b>&lt;0,001</b>
Cociente Calcidiol/Fósforo	5,74 (4,3-7,2)	6,03 (4,57-8,16)	5,68 (3,53-7,65)	<b>0,011</b>

**Tabla2.** Las variables cualitativas se expresan como porcentajes, las variables cuantitativas con distribución normal se muestran como media  $\pm$  desviación estándar y aquellas con distribución no normal como mediana y rango de intercuartiles.

CKD-EPI: Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo; FGF-23: Fibroblast Growth Factor-23; FGRe: Filtrado Glomerular estimado; HDL: High-density lipoprotein; IAMCEST: Infarto Agudo de Miocardio con Elevación de ST; IECAS: Inhibidores de la Enzima Convertidora de la Angiotensina; LDL: Low-density lipoprotein; PTH: paratohormona; SCASEST: Síndrome Coronario Agudo Sin Elevación de ST.

la categoría de filtrado glomerular tanto si éste se evaluaba como variable categórica (**Tabla 3 y Figura 16**) como si se estudiaba como una variable continua (**Figura 17**). Por otro lado el 90% de los pacientes presentaban niveles plasmáticos insuficientes o déficit de Calcidiol (<30 ng/ml). Sin embargo no se observó una relación entre este dato y el FGRe tanto en toda la población como en los diversos grupos de FGRe (**Tabla 3**).

Cuando realizamos un análisis multivariado de regresión logística el ser varón, la diabetes, el FGRe, y los niveles plasmáticos de Proteína C reactiva de alta sensibilidad, Calcidiol, fósforo, y FGF-23 eran predictores independiente de niveles plasmáticos de PTH. (**Tabla 4**).

En un análisis multivariado similar, los predictores independientes de los niveles plasmáticos de FGF-23 fueron la edad, el sexo varón, el FGRe, y los niveles de proteína C reactiva de alta sensibilidad, PTH y fósforo (**Tabla 5**).

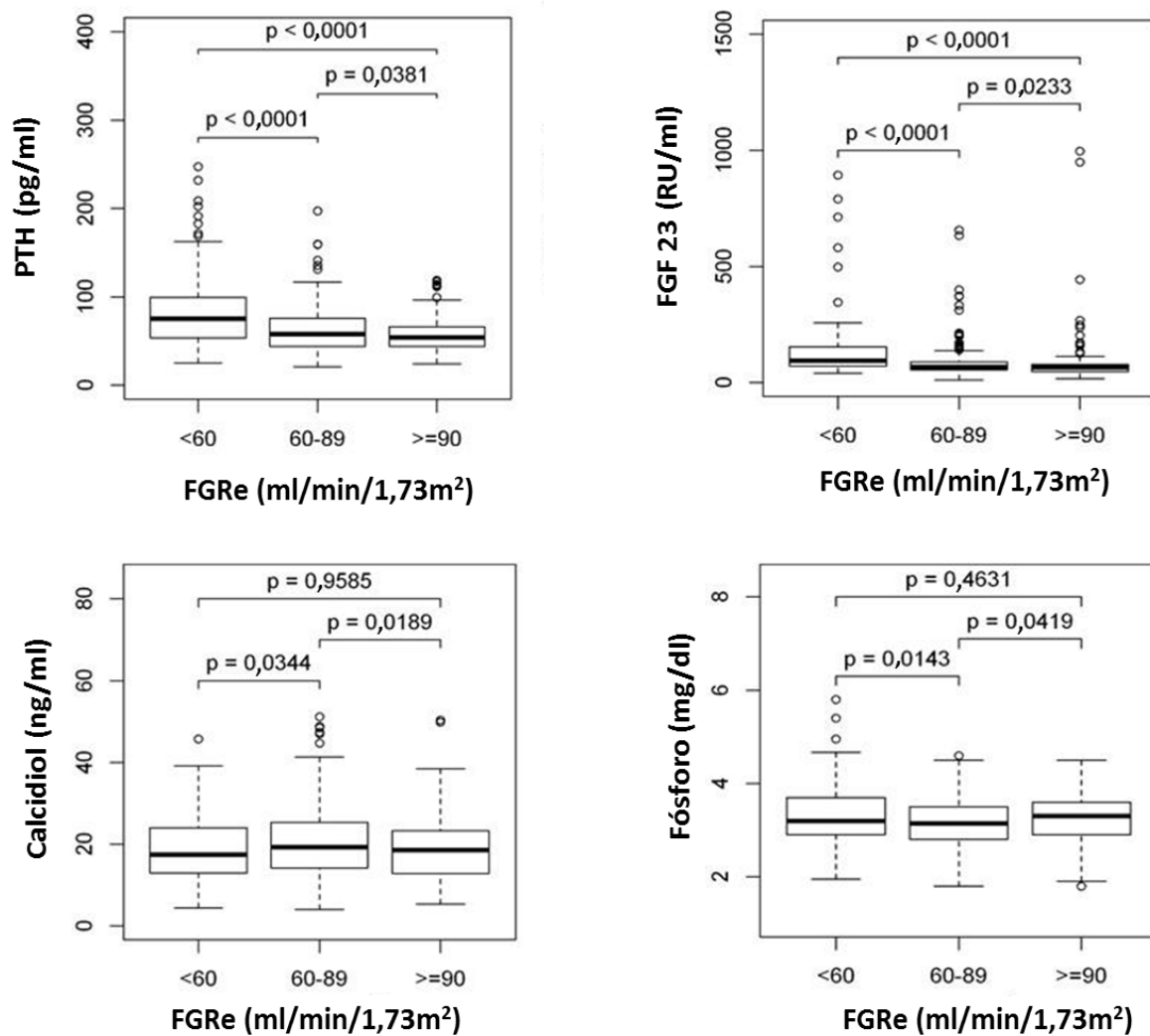
La **Tabla 6** muestra la distribución de FGRe y los parámetros del metabolismo mineral en los diferentes rangos de edad.

**Tabla 3. Análisis univariado entre parámetros del metabolismo mineral y las categorías de FGR.**

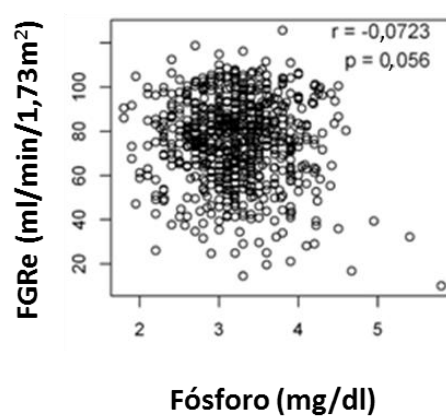
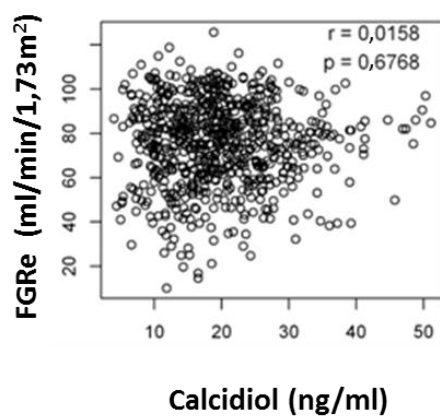
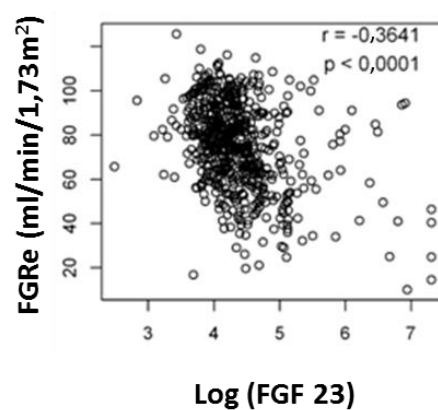
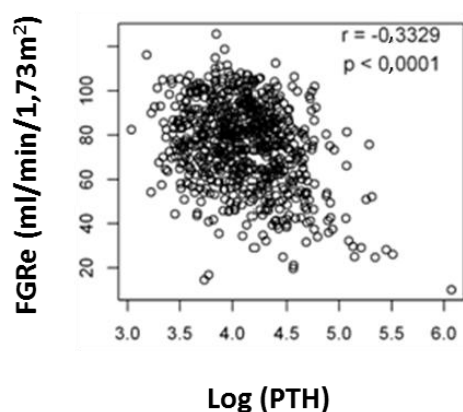
	<b>PTH</b>	<b>Fósforo</b>	<b>Calcidiol</b>	<b>FGF-23</b>
<b>G1 FGR&gt;90 ml/min/1.73m<sup>2</sup></b>				
PTH	---	-0,112 NS	-0,300 <b>(p &lt;0,0001)</b>	-0,034 NS
FGF-23	-0,034 NS	0,1041 NS	-0,1583 NS	---
FGR (CKD-EPI)	-0,164 <b>(p 0,0326)</b>	-0,0205 NS	-0,015 NS	-0,0373 NS
<b>G2 FGR 60-89 ml/min/1.73m<sup>2</sup></b>				
PTH	---	-0,097 NS	-0,3325 <b>(p&lt;0.0001)</b>	0,1449 <b>(p 0.0085)</b>
FGF-23	0,1449 <b>(p 0,0085)</b>	0,1316 <b>(p 0,0171)</b>	-0,1243 <b>(p 0,0241)</b>	---
FGR (CKD-EPI)	-0,0833 NS	-0,0458 NS	-0,0146 NS	-0,1808 (p 0,0009)
<b>G3-G5 FGR&lt;60 ml/min/1.73m<sup>2</sup></b>				
PTH	---	-0,202 NS	-0,318 <b>(p 0,001)</b>	0,270 <b>(p 0,006)</b>
FGF-23	0,270 <b>(p 0,006)</b>	0,205 NS	-0,024 NS	---
FGR (CKD-EPI)	-0,559 <b>(p 0,000)</b>	0,052 NS	-0,090 NS	-0,342 <b>(p 0,000)</b>
<b>Todos</b>				
PTH	---	-0,0918 <b>(p 0,0252)</b>	-0,3229 <b>(p&lt;0,0001)</b>	0,2012 <b>(p&lt;0,0001)</b>
FGF-23	0,2012 <b>(p&lt;0,0001)</b>	0,1173 <b>(p 0,0042)</b>	-0,1369 <b>(p 0,0008)</b>	---
FGR (CKD-EPI)	-0,2874 <b>(p&lt;0,0001)</b>	-0,0154 NS	0,0097 NS	-0,3425 <b>(p&lt;0,0001)</b>

Tabla 3.NS: No significativo.CKD-EPI: Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; FGF-23: Fibroblast Growth Factor-23; FGR: Filtrado Glomerular estimado; PTH: paratohormona.

**Figura 16. Metabolismo mineral según categorías de filtrado glomerular renal estimado (FGRe).**



**Figura 17. Correlación entre niveles plasmáticos de Calcidiol, PTH, FGF 23 y Fósforo y filtrado glomerular renal estimado (FGRe).**





**Tabla 4. Regresión logística multivariable para PTH**

	r	95 % IC		P
		Bajo	Alto	
<b>Constante</b>	4,700	4,187	5,214	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Edad</b>	0,000	-0,003	-0,003	0,8997
<b>Sexo Varón</b>	-0,084	-0,155	-0,012	<b>0,0215</b>
<b>Diabetes</b>	-0,145	-0,212	-0,077	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Hipertensión</b>	0,053	-0,012	0,118	0,1111
<b>Fumador actual</b>	-0,086	-0,202	0,029	0,1421
<b>Dislipemia</b>	-0,051	-0,109	0,007	0,0858
<b>FEVI&lt; 40%</b>	0,050	-0,039	0,139	0,2666
<b>FGRe (CKD-EPI)</b>	-0,006	-0,008	-0,004	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Proteína C Reactiva Alta Sensibilidad</b>	-0,058	-0,114	-0,002	<b>0,0419</b>
<b>Calcidiol</b>	-0,014	-0,017	-0,010	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Fósforo</b>	-0,068	-0,122	-0,015	<b>0,0119</b>
<b>Ln FGF-23</b>	0,084	0,031	0,137	<b>0,0019</b>
<b>IMC</b>	0,003	-0,003	0,010	0,3460
<b>Eventos cerebrovasculares previos</b>	-0,022	-0,165	0,121	0,7642
<b>Enfermedad arterial periférica</b>	0,031	-0,110	0,172	0,6665
<b>Fibrilación auricular</b>	-0,026	-0,165	0,113	0,7117

$R^2 = 0,2747$

Tabla 4. CKD-EPI: Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; FEVI: Fracción de eyección de ventrículo izquierdo; FGF-23: Fibroblast Growth Factor-23; FGRe: Filtrado Glomerular estimado; IC: Intervalo Confianza; IMC: Índice de Masa Corporal.

**Tabla 5. Regresión logística multivariable para FGF-23**

	r	95 % IC		P
		Bajo	Alto	
<b>Constante</b>	4,212	3,274	5,150	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Edad</b>	-0,005	-0,010	-0,000	<b>0,0407</b>
<b>Sexo Varón</b>	-0,191	-0,301	-0,080	<b>0,0007</b>
<b>Diabetes</b>	0,048	-0,058	0,155	0,3739
<b>Hipertensión</b>	0,034	-0,067	0,135	0,5033
<b>Fumador actual</b>	0,077	-0,102	0,257	0,3969
<b>Dislipemia</b>	-0,029	-0,119	0,062	0,5310
<b>FEVi &lt; 40%</b>	0,029	-0,109	0,167	0,6783
<b>FGRe (CKD-EPI)</b>	-0,009	-0,012	-0,006	<b>&lt;0,0001</b>
<b>Proteína C Reactiva Alta sensibilidad</b>	0,106	0,019	0,193	<b>0,0165</b>
<b>Calcidiol</b>	-0,002	-0,008	0,003	0,3895
<b>Fósforo</b>	0,101	0,018	0,183	<b>0,0171</b>
<b>Ln PTH</b>	0,202	0,075	0,330	<b>0,0019</b>
<b>IMC</b>	0,002	-0,008	0,013	0,6465
<b>Eventos cerebrovasculares previos</b>	-0,081	-0,303	0,141	0,4730
<b>Enfermedad arterial periférica</b>	0,202	-0,016	0,420	0,0694
<b>Fibrilación auricular</b>	0,199	-0,016	0,415	0,0692

$R^2 = 0,178$

Tabla 5. CKD-EPI: Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; FEVi: Fracción de eyección de ventrículo izquierdo; FGRe: Filtrado Glomerular estimado; IC: Intervalo Confianza; IMC: Índice de Masa Corporal; PTH: Paratohormona.

**Tabla 6. FGRe y metabolismo mineral de acuerdo a la edad.**

	$\leq 60$ años n=358	>60-75 años n = 243	>75 años n=103	p
FGRe (CKD-EPI) (ml/min/1,73m <sup>2</sup> )	85,1 $\pm$ 16,5	69,6 $\pm$ 16,2	58,5 $\pm$ 16,0	<b>&lt;0,001</b>
Calcidiol (ng/dl)	19,2 (14,1 - 24,5)	19,3 (13,5 - 25,6)	16,1 (12,8 - 21,3)	<b>0,015</b>
FGF23 (RU/dl)	66,6 (51,7 - 85,0)	76,5 (56,8 - 103,8)	81,3 (61,1 - 124,9)	<b>&lt;0,001</b>
PTH (pg/dl)	55,5 (43,0 – 69,6)	60,2 (46,9 -80,8)	77,6 (50,8 – 97,9)	<b>&lt;0,001</b>
Phosphate (mg/dl)	3,22 $\pm$ 0,57	3,17 $\pm$ 0,53	3,23 $\pm$ 0,53	0,484

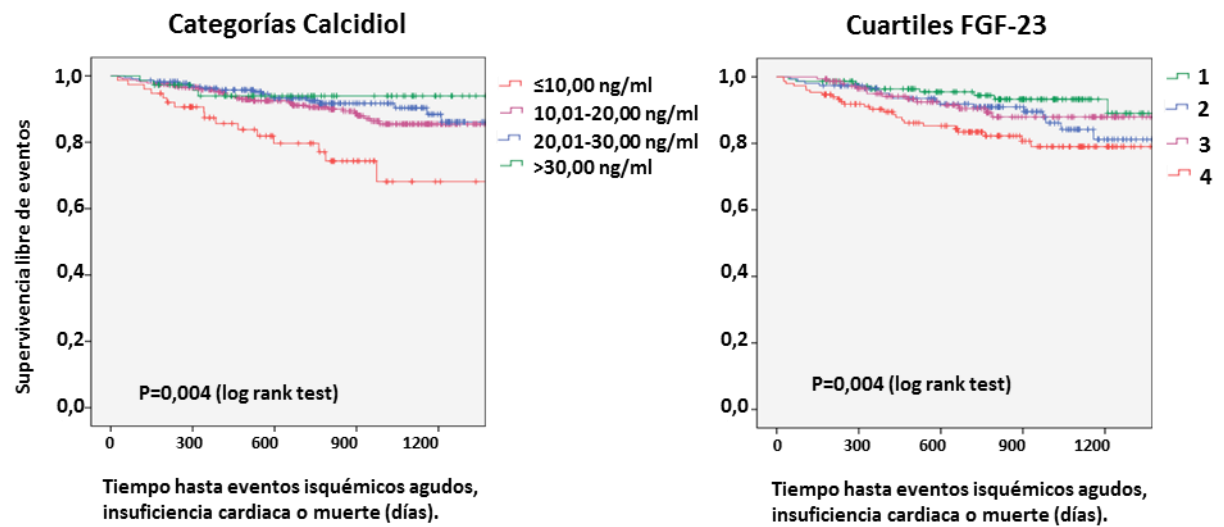
Tabla 6. Las variables cualitativas se expresan como porcentajes, las variables cuantitativas con distribución normal se muestran como media  $\pm$  desviación estándar y aquellas con distribución no normal como mediana y rango de intercuartiles. CKD-EPI: Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; FGF-23: Fibroblast Growth Factor-23; FGRe: Filtrado Glomerular estimado; PTH: paratohormona.

### **Relación entre metabolismo mineral y el desarrollo de eventos clínicos**

La media de seguimiento fue de 2,15 $\pm$ 0,99 años. Setenta y siete pacientes desarrollaron algún evento clínico. De estos, 12 pacientes sufrieron 2 eventos y 5 presentaron 3 eventos. Hubo 39 SCASEST, 4 IAMCEST, 8 ictus, 10 AITs, 16 episodios de insuficiencia cardiaca y 22 muertes. Ocho muertes se debieron a un evento cardiovascular, 4 a tumores malignos, hubo un caso de fallecimiento por infección, fallo renal, isquemia mesentérica, sangrado gastrointestinal y pancreatitis. En 5 casos no se identificó la causa del fallecimiento.

Las curvas de supervivencia de Kaplan-Meier mostraron que el pronóstico de los pacientes empeoraba según disminuían los niveles de Calcidiol ( p=0,004) (**Figura 18, izquierda**). Por otro lado el aumento de los niveles plasmáticos de FGF-23 se asociaba a un peor pronóstico (p=0,0004) (**Figura 18, derecha**).

**Figura 18. Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier según niveles de Calcidiol y FGF23**



En el análisis multivariado los pacientes que desarrollaron eventos tenían niveles plasmáticos más altos de FGF-23 y PTH y más bajos de Calcidiol y FGRe que aquellos que permanecían estables (**Tabla7**). No existían diferencias estadísticamente significativas entre los niveles plasmáticos de Fósforo, proteína C reactiva de alta sensibilidad ni de lípidos entre ambos grupos.

Tabla 7. Características basales de los pacientes con/sin eventos clínicos en el seguimiento.

	Pacientes Sin Eventos (N=627)	Pacientes con Eventos (N=77)	P
Edad (años)	59,0 (51,0-71,0)	72,0 (61,5-77,0)	<b>&lt;0,001</b>
Varones (%)	76,7	63,6	<b>0,017</b>
Raza Caucásica (%)	97,0	97,4	1,000
Índice de Masa Corporal (Kg/m <sup>2</sup> )	28,4 (25,7-30,8)	28,6 (25,7-34,1)	0,134
Diabetes (%)	22,0	33,8	<b>0,031</b>
Fumador Activo (%)	6,7	5,2	0,808
Hipertensión (%)	62,4	88,3	<b>&lt;0,001</b>
Enfermedad arterial periférica previa (%)	3,3	7,8	0,105
Eventos cerebrovasculares previos (%)	3,0	6,5	0,170
Cirugía revascularización previa (%)	7,3	16,9	<b>0,008</b>
Angioplastia previa (%)	78,1	77,9	1,000
FEV <sub>1</sub> < 40% (%)	11,6	13,0	<b>0,016</b>
Fibrilación Auricular (%)	3,3	16,9	<b>&lt;0,001</b>
<b>TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO</b>			
Aspirina (%)	92,7	85,7	<b>0,045</b>
Clopidogrel (%)	68,6	61,0	0,197
Acenocumarol (%)	4,6	15,6	<b>0,001</b>
Estatinas (%)	88,7	79,2	<b>0,026</b>
Antidiabéticos orales (%)	17,4	20,8	0,434
Insulina (%)	5,4	14,3	<b>0,006</b>
IECAS/ARAI (%)	71,0	64,9	0,291
Inhibidores de la Aldosterona (%)	5,1	11,7	<b>0,034</b>
Betabloqueantes (%)	77,2	70,1	0,200
Verapamilo (%)	0,5	0,0	1,000
Diltiazem (%)	2,7	7,8	<b>0,031</b>
Dihidropiridinas (%)	15,9	22,1	0,193
Diuréticos (%)	17,7	32,5	<b>0,003</b>
Digoxina (%)	0,3	1,3	0,294
<b>DATOS DE ÚLTIMO EVENTO CORONARIO</b>			
IAMCEST/SCAEST (%)	39,6/60,4	31,2/68,8	0,173
Número de vasos enfermos	1,35±0,80	1,57±0,83	<b>0,022</b>
Enfermedad del tronco (%)	3,8	5,2	0,804
Revascularización (%)	80,5	72,7	0,136
Tipo of revascularización			0,331
Cirugía (%)	4,9	5,2	
Stent farmacoactivo (%)	47,6	36,4	
Stent convencional (%)	25,8	29,9	
Angioplastia con balón (%)	2,1	1,3	
No revascularización (%)	19,5	27,3	
Revascularización Completa (%)	67,3	49,1	<b>0,007</b>
<b>DATOS ANALÍTICOS</b>			
LDL colesterol (mg/dl)	82,7±24,2	86,7±35,2	0,335
HDL colesterol (mg/dl)	43,7±10,7	45,2±12,2	0,250
No-HDL colesterol (mg/dl)	108,3±29,7	114,0±39,6	0,224
Triglicéridos (mg/dl)	130,4±84,7	136,8±66,7	0,522
Glucemia (mg/dl)	109,0±33,3	110,2±46,9	0,786
FGRe (MDRD) (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	73,4 (61,9-84,1)	64,1 (48,2-79,2)	<b>&lt;0,001</b>
Proteína C reactiva Alta Sensibilidad (mg/L)	4,41±9,73	5,20±9,11	0,499
Calcidiol (ng/ml)	19,0 (14,0-24,7)	16,5 (10,6-23,4)	<b>0,003</b>
Categorías de Calcidiol			<b>0,004</b>
≤10 ng/ml	9,5	22,1	
10.01-20.0 ng/ml	46,3	46,8	
20.01-30 ng/ml	33,1	26,0	
>30.0 ng/ml	11,1	5,2	
FGF-23 (RU/ml)	69,3 (53,9-93,1)	85,0 (61,9-118,2)	<b>0,003</b>
PTH (pg/ml)	59,4 (44,4-75,9)	65,1 (48,1-93,0)	<b>0,025</b>
Fósforo (mg/dl)	3,23±1,38	3,35±0,61	0,489

Tabla 7. Las variables cualitativas se presentan como porcentajes, las variables cualitativas con distribución normal como media  $\pm$  DS y aquellas con distribución no normal como mediana (rango de intercuartiles).ARAI: Antagonista de los receptores de la Angiotensina II; FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo;FGF-23: Fibroblast Growth Factor-23; FGRe: Filtrado Glomerular estimado;HDL: High-density lipoprotein; IAMCEST: Infarto Agudo de Miocardio con Elevación de ST; IECAS: Inhibidores de la Enzima Convertidora de la Angiotensina; MDRD:Modification of Diet in Renal Disease; LDL: Low-density lipoprotein; SCASEST: Síndrome Coronario Agudo Sin Elevación de ST; PTH: paratohormona.

En el análisis multivariado los niveles plasmáticos de FGF-23 y las categorías de calcidiol permanecían como predictores independientes de evolución junto con la edad y la existencia de hipertensión arterial (**Tabla 8**).

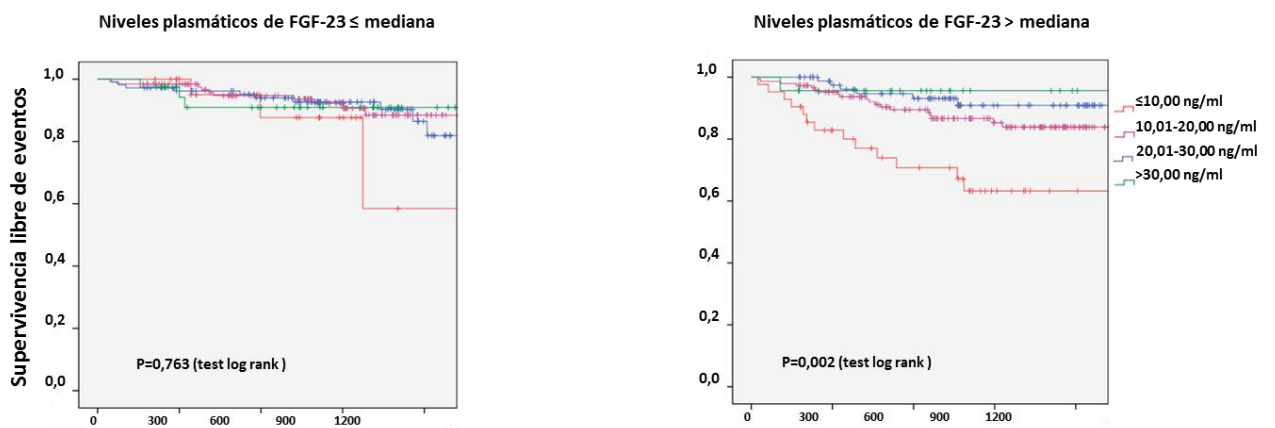
**Tabla 8. Análisis Multivariado según modelo de Cox para evaluar la incidencia de eventos adversos en toda la población a estudio.**

	Riesgo relativo	95 % IC		P
		Bajo	Alto	
<b>Edad</b>	1,05	1,03	1,07	<0,001
<b>Hipertensión</b>	2,61	1,22	5,58	0,013
<b>FGF-23</b>	1,13*	1,04*	1,23*	0,005
<b>Calcidiol</b>	0,67	0,48	0,94	0,021

Tabla 8. IC: Intervalo de confianza; FGF-23: Fibroblast Growth Factor-23. \*Aumento en el riesgo relativo por 100 RU/ml. Calcidiol fue calculado como variable categórica. La categoría de referencia era: 0.00-10.00 ng/ml.

Para explorar la influencia de la relación entre calcidiol y FGF-23 en el riesgo cardiovascular dividimos a la población en 2 grupos de acuerdo a la mediana de niveles plasmáticos de FGF-23 (69,9 RU/ml). En los pacientes con FGF-23 plasmático menor o igual a la mediana las curvas de Kaplan-Meier no mostraron diferencias en la incidencia de eventos adversos entre las diversas categorías de calcidiol( $p=0,763$ )( **Figura 19**). Sin embargo esta asociación era estadísticamente significativa ( $p=0,002$ ) en el subgrupo de pacientes con niveles plasmáticos de FGF23 mayores que la mediana (69,9 RU/ml) (**Figura19**).

**Figura 19.** Curvas de supervivencia de Kaplan-Meier según categorías de Calcidiol en los subgrupos de la población de acuerdo a sus niveles plasmáticos de FGF-23.



**Tiempo hasta desarrollo de eventos isquémicos agudos, insuficiencia cardíaca o muerte**

Cuando repetimos el análisis de Cox multivariado en pacientes con niveles plasmáticos de FGF-23 superiores a la mediana, las categorías de calcidiol seguían siendo predictores independientes de la evolución (**Tabla 9**). Sin embargo, el Calcidiol no fue predictor independiente de eventos adversos en aquellos pacientes que presentaban niveles de FGF-23 por debajo de la mediana (**Tabla 10**). Existía una interacción estadísticamente significativa entre los niveles plasmáticos de calcidiol y FGF-23 ( $p=0,025$ ).

**Tabla 9. Modelo de Cox Multivariado para la incidencia de eventos adversos en pacientes con niveles plasmáticos de FGF-23 superiores a la mediana**

	Riesgo relativo	95 % IC		p
		Bajo	Alto	
<b>Edad</b>	1,06	1,03	1,09	<0,001
<b>Hipertensión</b>	3,60	1,10	11,78	0,011
<b>Calcidiol</b>	0,50	0,31	0,80	0,003

Tabla 9. IC: Intervalo de confianza. Calcidiol fue calculado como variable categórica. La categoría de referencia era: 0,00-10,00 ng/ml.



**Tabla 10. Modelo de Cox Multivariado para la incidencia de eventos adversos en pacientes con niveles plasmáticos de FGF-23 inferiores a la mediana**

	Riesgo relativo	95 % IC		P value
		Bajo	Alto	
<b>Edad</b>	1,04	1,01	1,07	0,023
<b>Hipertensión</b>	2,54	0,92	6,98	0,052
<b>Calcidiol</b>	1,03	0,62	1,71	0,904

Tabla 10. IC: Intervalo de Confianza Calcidiol fue calculado como variable categórica. La categoría de referencia era: 0,00-10,00 ng/ml.

### **Relaciones del metabolismo mineral con la hipertrofia ventricular izquierda**

La relación entre el metabolismo mineral y la HVI se examinó en 146 pacientes del estudio de los que disponíamos de medidas ecocardiográficas. La edad media de este subgrupo fue de 67,5 años (54,8 – 78,0) y un 64,4% eran varones.

En 29 pacientes (19,9%) existía HVI, definida como septo interventricular  $\geq$  11mm medido en diástole. Los pacientes con hipertrofia ventricular izquierda eran mayores, tenían FGRe más bajo, menor prevalencia de FEVI <40%, tomaban más frecuentemente diuréticos, y presentaban niveles plasmáticos más elevados de PTH y calcio corregido así como de NGAL (neutrophil gelatinase associated lipocalin) (173,9 $\pm$ 73,4 vs 208,5 $\pm$ 87,6; p:0,031) y de Galectina-3 [8,3 (6,9-9,9) vs 9,6 (8,0-11,1)], estos dos últimos marcadores relacionados con insuficiencia cardiaca. No había diferencias en el resto de características clínicas y analíticas entre ambos grupos (**Tabla 11**).

**Tabla 11. Características basales de los pacientes con y sin hipertrofia ventricular izquierda.**

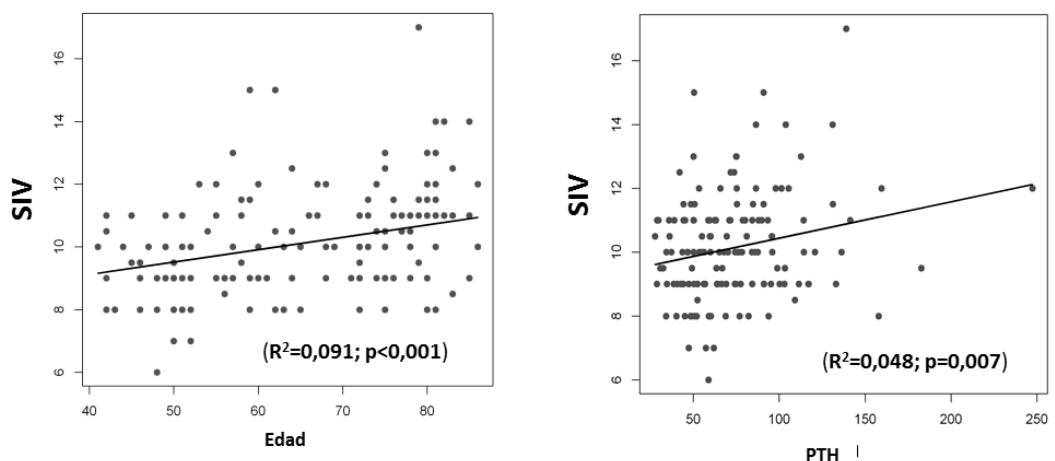
	No Hipertrofia (n=117)	Hipertrofia (n=29)	P
Edad	64 (61-81)	75 (51-76)	<b>0,002</b>
Varones (%)	76 (65%)	18 (62,1%)	0,830
Raza Caucásica (%)			
Fumador (%)	76 (65%)	15 (51,7%)	0,205
Hipertensión (%)	80 (68,4%)	23 (79,3%)	0,363
Dislipemia (%)	62 (53%)	16 (55,2%)	1,000
Diabetes (%)	24 (20,5%)	7 (24,1%)	0,623
Índice de masa corporal (Kg/m <sup>2</sup> )	27,8 (25,7-30,6)	28,5 (26,2-30,1)	0,795
Eventos cerebrovasculares previos (%)	8 (6,8%)	1 (3,4%)	0,688
Enfermedad arterial periférica previa (%)	2 (1,7%)	1 (3,4%)	0,488
FEVI<40%	28 (23,9%)	2 (6,9%)	<b>0,043</b>
Fibrilación auricular (%)			
<b>TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO</b>			
Aspirina (%)	107 (91,5%)	27 (93,1%)	1,000
Clopidogrel (%)	90 (76,9%)	25 (86,2%)	0,322
Acenocumarol (%)	8 (6,8%)	0 (0%)	0,357
Estatinas (%)	111 (94,9%)	28 (96,6%)	1,000
Antialdosterónicos	13 (11,1%)	2 (6,9%)	0,736
Betabloqueantes	84 (71,8%)	25 (86,2%)	0,152
Verapamilo	0 (0%)	0 (0%)	-
Diuréticos	28 (23,9%)	13 (44,8%)	<b>0,037</b>
Diltiazem	1 (0,9%)	0 (0,0%)	1,000
IECAs	85 (72,6%)	22 (75,9%)	0,818
ARA II	21 (17,9%)	8 (27,6%)	0,298
Dihidropiridinas	16 (13,7%)	8 (27,6%)	0,092
Antidiabéticos orales	14 (12,0%)	6 (20,7%)	0,234
Insulina	8 (6,8%)	2 (6,9%)	1,000
Alfa-bloqueantes	4 (3,4%)	0 (0,0%)	0,585
<b>DATOS DEL ÚLTIMO EVENTO CORONARIO</b>			
IAMCEST/SCASEST	47,9/ 52,1	55,2 / 44,8	0,538
Intervencionismo percutáneo	94 (80,3%)	23 (79,3%)	1,000
Revascularización coronaria quirúrgica	5 (4,3%)	2 (6,9%)	0,626
<b>DATOS ANALÍTICOS</b>			
FGRe (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	74,7±19,9	65,1±20,0	<b>0,021</b>
Proteína C Reactiva alta sensibilidad (mg/ml)	4,96±11,86	3,33±3,76	0,467
Calcidiol (ng/ml)	19,6±8,2	16,6±6,3	0,069
FGF-23 (RU/ml)	86,7±98,4	90,2±62,1	0,855
PTH (pg/ml)	63,2 (49,2-85,2)	84,7 (59,6-104,7)	<b>0,007</b>
Fósforo (mg/ml)	3,56±3,02	3,14±0,56	0,462
Calcio (mg/dL)	9,3 (9,0-9,6)	9,5 (9,1-9,8)	0,095
Albumina (gr/dL)	4,3 (4,0-4,5)	4,3 (4,1-4,3)	0,521
Calcio corregido (mg/dL)	9,1 (8,8-9,4)	9,3 (9,1-9,7)	<b>0,027</b>

Tabla 11. Las variables cualitativas se presentan como porcentajes, las variables cualitativas con distribución normal como media ± DS y aquellas con distribución no normal como mediana (rango de intercuartiles). ARAII: Antagonista de los receptores de la Angiotensina II; FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo; FGF-23: Fibroblast Growth Factor-23; FGRe: Filtrado Glomerular estimado; IAMCEST: Infarto Agudo de Miocardio con Elevación de ST; IECAS: Inhibidores de la Enzima Convertidora de la Angiotensina; SCASEST: Síndrome Coronario Agudo Sin Elevación de ST; PTH: paratohormona.

Todas las variables que alcanzaron significación estadística en el análisis univariado entre ambos grupos (edad, sexo, FGRe, FEVI >40%, toma de diuréticos, niveles plasmáticos de PTH, calcio corregido, NGAL y Galectina 3) junto a la presencia de hipertensión (dada la relevancia de este parámetro en el desarrollo de HVI) fueron introducidas en un análisis de regresión logístico. De estas variables únicamente la edad [Odds Ratio=1,052 (1,013-1,099); p=0,011], niveles plasmáticos de PTH [Odds Ratio=1,017 (1,003-1,032), p=0,021] y la FEVI > 40% [Odds Ratio=7,700 (1,469-40,352); p=0,016], fueron predictores independientes del desarrollo de HVI.

Hubo una correlación estadísticamente significativa entre el tamaño del SIV, la edad ( $r=0,302$ ;  $p<0,001$ ) y los niveles plasmáticos de PTH ( $r=0,220$ ;  $p=0,007$ ) como se muestra en **Figura20**. Los niveles plasmáticos de FGF-23 ( $r=0,067$ ;  $p=0,425$ ) no se correlacionaron con las medidas del SIV. Los niveles plasmáticos de PTH se correlacionaron inversamente con los niveles plasmáticos de calcidiol ( $r=-0,390$ ;  $p<0,001$ ), pero no mostró correlación estadísticamente significativa con los niveles plasmáticos de fósforo ( $r=0,126$ ;  $p=0,133$ ).

**Figura 20. Correlación entre el espesor del septo interventricular (SIV) con la edad y los niveles plasmáticos de PTH**



La población fue dividida en dos grupos en función de su FGRe. 41 pacientes (28%) tenían un  $\text{FGRe} < 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$  y 105 pacientes (72%) tenían  $\text{FGRe} \geq 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ . Aquellos que tenían  $\text{FGRe} \geq 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$  eran más jóvenes ( $61,7 \pm 12,6$  vs  $7,4 \pm 6,3$  años;  $p < 0,001$ ), y presentaban los niveles plasmáticos más bajos de FGF-23 [ $65,2$  ( $48,9-83,7$ ) vs  $84,1$  ( $61,9-126,0$ ) RU/ml;  $p = 0,001$ ], de Proteína C reactiva de alta sensibilidad [ $1,42$  ( $0,73-3,11$ ) vs  $2,84$  ( $1,13-6,62$ ) mg/L;  $p = 0,005$ ], y de PTH ( $67,63 \pm 25,85$  vs  $89,60 \pm 42,78$  pg/mL);  $p = 0,003$ ). Las diferencias entre el resto de parámetros clínicos y analíticos se muestran en la **Tabla 12**.

En el subgrupo de pacientes con  $\text{FGRe} \geq 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$  había 17 pacientes (16,2% de este subgrupo y 11% del total) que tenían HVI. Estos pacientes eran mayores ( $67,2 \pm 10,1$  vs  $60,6 \pm 12,8$  años;  $p = 0,048$ ) y tenían más elevados los niveles plasmáticos de PTH ( $86,31 \pm 31,12$  vs  $64,02 \pm 23,22$  pg/mL;  $p = 0,01$ ) que aquellos sin HVI ( $n = 88$ ). Introdujimos la edad, los niveles plasmáticos de PTH, el sexo y la HTA en un modelo de regresión logística. Solo los niveles plasmáticos de PTH [Odds Ratio =  $1,031$  ( $1,011-1,053$ );  $p = 0,003$ ] fueron predictores independientes del desarrollo de HVI. Estos resultados no se modificaban si añadíamos los niveles de FGF-23 al modelo junto al resto de variables.

No realizamos análisis en el subgrupo de pacientes con  $\text{FG} < 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$  debido al escaso tamaño muestral (12 pacientes con hipertrofia y 29 sin ella).

**Tabla 12. Características basales de pacientes en los que se estudió hipertrofia ventricular izquierda en función de su filtrado glomerular.**

	<b>Filtrado &gt;60 ml/min/1,73m<sup>2</sup> (n=105)</b>	<b>Filtrado &lt;60 ml/min/1,73m<sup>2</sup> (n=41)</b>	<b>P value</b>
Edad	61,7 (±12,6)	76,4 (±6,3)	<b>&lt;0,001</b>
Varones (%)	68,6	53,7	0,068
Raza Caucásica (%)	-----	-----	-----
Fumador (%)	68,6	46,3	<b>0,011</b>
Hipertensión (%)	64,8	85,4	<b>0,010</b>
Dislipemia (%)	51,4	58,5	0,278
Diabetes (%)	19,0	26,8	0,208
Indice de masa corporal (Kg/m <sup>2</sup> )	28,5 (26,0-30,8)	27,5 (24,8-29,5)	0,088
Eventos cerebrovasculares previos (%)	3,8	12,2	0,071
Enfermedad arterial periférica previa (%)	1,0	4,9	0,190
FEVI<40%	17,1	29,3	<b>0,083</b>
Fibrilación auricular (%)	-----	-----	---
<b>TRATAMIENTO FARMACOLÓGICO</b>			
Aspirina (%)	93,3	87,8	0,219
Clopidogrel (%)	81,9	70,7	0,106
Acenocumarol (%)	4,8	7,3	0,399
Estatinas (%)	94,3	97,6	0,366
Antialdosterónicos	7,6	17,1	0,086
Betabloqueantes	76,2	70,7	0,315
Verapamilo	0	0	-
Diuréticos	25,7	34,1	0,207
Diltiazem	1	0	0,719
IECAs	74,3	70,7	0,405
ARA II	21,0	17,1	0,391
Dihidropiridinas	9,5	34,1	<b>0,001</b>
Antidiabéticos orales	14,3	12,2	0,487
Insulina	2,9	17,1	<b>0,005</b>
Alpha-bloqueantes	2,9	2,4	0,686
<b>DATOS DEL ÚLTIMO EVENTO CORONARIO</b>			
IAMCEST/SCASEST	51,4/48,6	48,8/51,2	0,459
Intervencionismo percutáneo	81,9	75,6	0,262
Revascularización coronaria quirúrgica	3,8	7,3	0,307
<b>DATOS ANALÍTICOS</b>			
FGRe (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	83,0 (±12,7)	46,8 (±9,8)	<b>&lt;0,001</b>
Proteína C Reactiva Alta Sensibilidad (mg/ml)	1,4 (0,7-3,1)	2,8 (1,1-6,6)	<b>0,005</b>
Calcidiol (ng/ml)	19,1 (±7,7)	18,9 (±8,6)	0,964
FGF-23 (RU/ml)	65,2 (48,9-83,7)	84,1 (61,9-126,0)	<b>0,001</b>
PTH (pg/ml)	67,6 (±25,8)	89,9 (±42,8)	<b>0,003</b>
Fósforo (mg/ml)	3,22 (2,0-3,5)	3,3 (2,8-3,9)	0,758

Tabla 12. Las variables cualitativas se presentan como porcentajes, las variables cualitativas con distribución normal como media ± DS y aquellas con distribución no normal como mediana (rango de intercuartiles). ARAII: Antagonista de los receptores de la Angiotensina II;FEVI: fracción de eyección del ventrículo izquierdo;FGF-23: Fibroblast Growth Factor-23; FGRe: Filtrado Glomerular estimado;IAMCEST: Infarto Agudo de Miocardio con Elevación de ST;IECAs: Inhibidores de la Enzima Convertidora de la Angiotensina; SCASEST: Síndrome Coronario Agudo Sin Elevación de ST; PTH: paratohormona.

# DISCUSIÓN

## **Prevalencia de las alteraciones del metabolismo mineral.**

Las Guías de Práctica Clínica para la Evaluación y Manejo de la Enfermedad Renal Crónica publicadas en 2012 por la KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes) definen la enfermedad renal crónica (ERC) como la presencia de más de 3 meses de anomalías de la estructura o la función renal, con implicaciones para la salud (257). La ERC se clasifica según la etiología, el FGRe y la albuminuria.

Se establecen 6 categorías según el FGRe: G1 ( $\geq 90$  ml/ min/ $1,7 \text{ m}^2$ ), G2 (60-89 ml/ min/ $1,7 \text{ m}^2$ ) G3a (45-59 ml/ min/ $1,7 \text{ m}^2$ ), G3b (30-44 ml/ min/ $1,7 \text{ m}^2$ ), G4 (15-29 ml/ min/ $1,7 \text{ m}^2$ ) G5 ( $< 15$  ml/ min/ $1,7 \text{ m}^2$ ).

Se define la ERC como un FGRe $<60$  ml/ min/ $1,7 \text{ m}^2$  o evidencia de lesión renal como un cociente albúmina/creatinina urinaria $>30$  mg/g (257). El motivo de esta clasificación es el incremento del riesgo relativo de eventos adversos asociado a FGRe $<60$  ml/ min/ $1,7 \text{ m}^2$  o a un cociente albúmina/creatinina urinaria $>30$ mg/g (257). La ausencia de cálculo del cociente albúmina/creatinina urinaria por especialistas no nefrólogos podría llevar a infradiagnosticar a pacientes en estadios iniciales de ERC y a no tratar las complicaciones precoces de esta entidad como las alteraciones del metabolismo mineral que se relacionan con calcificación vascular acelerada, HVI y aumento de la morbilidad y mortalidad cardiovascular (258,259).

En nuestro estudio, la mayoría de pacientes con cardiopatía isquémica crónica presentan alteraciones en el metabolismo mineral que es más prevalente que en sujetos sanos, donde la prevalencia de insuficiencia de vitamina D se ha estimado en un 64% frente al 89,6% de nuestra población (260). Estas anomalías tienen una

relación con el descenso del FGRe, reflejando que las anomalías del metabolismo mineral aparecen con  $\text{FGRe} < 90 \text{ ml/min/1.73 m}$ . Existe una elevada prevalencia de disminución del FGRe sin diagnóstico previo de ERC. Los datos actuales no permiten un diagnóstico de ERC para los pacientes clasificados según FGRe en categorías G1 y G2, debido al desconocimiento de los valores de cociente albúmina/creatinina urinaria (como suele ser el caso para los pacientes cardiológicos). Sin embargo, estos resultados aportan pruebas de que estos bajos valores de FGRe, incluso dentro de categoría G1, pueden asociarse ya con alteraciones de parámetros relacionados con el metabolismo mineral, como los niveles plasmáticos de PTH y el FGF23. Así, pueden contribuir a los hallazgos observados con frecuencia en pacientes con cardiopatía isquémica crónica, como HVI, calcificación vascular y altas tasas de mortalidad (261-272).

La prevalencia de ERC (definida como  $\text{FGRe} < 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ ) en pacientes con cardiopatía isquémica según datos de más de 16.000 pacientes incluidos en 5 ensayos clínicos multicéntricos es del 16% (273). En nuestro estudio, un 20% de los pacientes presentan ERC según esta definición, pero un 76% de los pacientes presentaban un  $\text{FGRe} < 90 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ . En nuestro trabajo describimos niveles plasmáticos elevados de PTH y FGF-23 en pacientes con  $\text{FGRe} > 90 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ , pero la mayoría de los pacientes con alteraciones en estos niveles plasmáticos eran aquellos con  $\text{FGRe} < 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ . Los niveles plasmáticos de PTH y FGF-23 se correlacionaron negativamente con el FGRe en toda la población, siendo el FGRe el principal determinante de PTH y FGF-23 en el análisis multivariado. Además, el FGRe correlacionó con los niveles plasmáticos de PTH incluso en categoría G1 y con los niveles de FGF-23 desde categoría G2, sugiriendo un impacto del FGRe en las

alteraciones del metabolismo mineral incluso en aquellos cuyos parámetros de FGRe son considerados “normales” para la edad.

En pacientes con ERC existe una pérdida gradual para la excreción de fósforo debido a la reducción en el número de nefronas, lo que conlleva una tendencia hacia un balance positivo de fósforo (274). Mínimos descensos del FGRe (categoría G2) ya se asocian con disminución del filtrado de fósforo y aparición de mecanismos compensadores para mantener la homeostasis del fósforo, tales como la elevación de los niveles plasmáticos de FGF-23 y PTH (274,275). En este sentido, los niveles elevados de FGF-23 indican una respuesta fisiológica a un estado de exceso de fósforo como resultado de un exceso de suplementos en la dieta o de una reducción de la excreción renal. El FGF-23 protege del exceso de fósforo por disminuir la absorción tubular renal, promoviendo la excreción de fósforo urinario, y por inhibir la activación de 25(OH) vitamina D a 1,25 (OH)<sub>2</sub> Vitamina D en las células tubulares, lo que disminuye la absorción de calcio y fósforo intestinal protegiendo de las dietas ricas en fósforo. Esto provoca una tendencia hacia la hipocalcemia lo que incrementa los niveles de PTH (274,276). Como resultado de los niveles aumentados de FGF-23 y PTH los niveles plasmáticos de fósforo permanecen dentro de los límites normales hasta estadios muy avanzados de ERC (258,277).

Los pacientes con FGRe disminuido o con ERC establecida presentan mayor riesgo de eventos adversos (277, 278, 279). En los pacientes sin ERC, las alteraciones del metabolismo mineral también se han relacionado con enfermedad coronaria visualizada por coronariografía (280), así como con un aumento del grosor de la capa íntima y media carotídea (281) e HVI (282). Los niveles plasmáticos de calcidiol, PTH, fósforo y FGF-23 se han relacionado con la incidencia y la prevalencia de la



enfermedad cardiovascular, sugiriendo una clara relación entre el metabolismo mineral y la salud cardiovascular.

En nuestro estudio el análisis multivariado mostró que el FGRe es el principal determinante de los niveles plasmáticos de FGF-23. Además, los niveles plasmáticos de fósforo, PCR de alta sensibilidad y PTH se correlacionaban directamente con los niveles de FGF-23. La existencia de estos controladores independientes de los niveles plasmáticos de FGF-23 pueden explicar la presencia de niveles elevados de FGF-23 en el 18 % de los pacientes con FGRe  $\geq 90$  ml / min /  $1,73 \text{ m}^2$  y en el 30% de los pacientes con FGRe entre 60-89 ml/min/ $1.73 \text{ m}^2$ . Por lo tanto la presencia de inflamación sistémica o un exceso de fósforo en la dieta podrían conducir a incrementar la secreción de FGF-23. En este sentido, el modelo multivariable sólo explicó el 18% de la variabilidad del FGF-23. De hecho, aunque el incremento de la edad se asoció con un descenso progresivo del FGRe y un aumento de los niveles de FGF-23, esta variable sólo explicaba una mínima parte de las variaciones del FGRe en el modelo multivariado. Estos datos sugieren un papel importante de factores adicionales, incluyendo potencialmente un exceso de fósforo en la dieta.

Los niveles plasmáticos elevados de PTH se han asociado a una probabilidad aumentada de enfermedad y mortalidad cardiovascular (268), incluso en pacientes con cardiopatía isquémica crónica (269). En nuestro estudio había un gran número de pacientes con niveles aumentados de PTH. En el análisis multivariado el FGRe disminuido, los niveles bajos de calcidiol y elevados de FGF-23 fueron los principales determinantes de los niveles de PTH. Además, existía una relación inversa entre los niveles plasmáticos de fósforo y PTH. Así, cuando aumentan los niveles de PTH en respuesta a unos niveles plasmáticos más bajos de calcio o de vitamina D (la cual

aumenta la absorción de fósforo por el riñón) se incrementa la excreción urinaria de fósforo lo que podría llevar a disminuir los niveles plasmáticos de fósforo. La correlación independiente de ambos niveles de PTH y FGF-23 podría ser el resultado de complejas interacciones entre ambas moléculas. La tendencia a la hipocalcemia como resultado del aumento de FGF-23 mediante la supresión de la activación de la Vitamina D podría incrementar los niveles de PTH (283).

Finalmente, la diabetes presentaba una correlación negativa con los niveles de PTH. Sabemos que la hiperglucemia suprime la secreción de Vitamina D (284). Cabría pensar que este efecto podría proteger del desarrollo de aterosclerosis en diabéticos. Sin embargo, los niveles bajos de PTH también pueden tener efectos perjudiciales sobre el sistema cardiovascular a través de varios mecanismos. Así, disminuyen el turnover óseo y pueden llevar a una enfermedad ósea adinámica (285), una entidad clínica bien caracterizada que se asocia no solo con el aumento del riesgo de fracturas, sino también con calcificación vascular que al menos podría explicar en parte la asociación de esta anomalía con el aumento de la mortalidad. Además, la diabetes o la edad avanzada, se han asociado con esta entidad (285). Por tanto, no parece probable que la disminución de la PTH en diabéticos pueda proteger del desarrollo de aterosclerosis.

### **Relación entre metabolismo mineral y pronóstico.**

Este estudio demuestra por primera vez que la combinación de los niveles plasmáticos de calcidiol y FGF- 23 es un fuerte predictor de eventos adversos en los pacientes con cardiopatía isquémica crónica.

Hemos demostrado que los niveles bajos de vitamina D se asocian de manera independiente con un pronóstico adverso en pacientes con cardiopatía isquémica crónica. Estos resultados son similares a varios estudios anteriores. Tres metaanálisis, que incluyeron a pacientes con y sin enfermedad cardiovascular, encontraron una asociación inversa entre los niveles circulantes de calcidiol y el riesgo de enfermedades cardiovasculares y muerte cardiovascular (231,286,287). Además, los niveles plasmáticos disminuidos de calcidiol se han asociado con la severidad de la enfermedad coronaria (288,289). Por otro lado, los niveles elevados de calcidiol se asocian con un menor riesgo de enfermedad coronaria en la población general (290,291). De hecho, los niveles bajos de calcidiol favorecen la aparición de disfunción endotelial, inflamación, activación del sistema renina-angiotensina, proliferación de células musculares lisas vasculares, calcificación vascular y de infarto agudo de miocardio (228,232,288,292,293). Recientemente, *Siasos et al* demostraron que la deficiencia de calcidiol era un predictor independiente de eventos adversos en pacientes con cardiopatía isquémica que se realizaban una coronariografía (294). Sin embargo, el tamaño muestral era inferior a nuestro estudio y no se analizaron otros componentes del metabolismo mineral.

Por el contrario, los niveles plasmáticos de calcidiol no predijeron la incidencia de eventos cardiovasculares ni la mortalidad en pacientes con cardiopatía isquémica crónica randomizados a dos dosis de atorvastatina (295). La hipótesis fue que el efecto beneficioso de las estatinas podría superar el daño vascular relacionado con el déficit de vitamina D. Sin embargo, en nuestro estudio, la mayoría de pacientes estaban recibiendo estatinas y, a pesar de ello, los niveles de calcidiol predijeron la aparición de eventos adversos. Los niveles de calcidiol mostraron una correlación ligera con la

proteína C reactiva de alta sensibilidad y no existía una correlación con el FGRe, lo que sugiere que los niveles de calcidiol proporcionan información pronóstica que no está relacionada con estos factores. Sin embargo, en nuestros pacientes, ninguna de estas variables fueron predictores independientes de un pronóstico adverso. De hecho, los niveles de proteína C reactiva de alta sensibilidad no fueron diferentes entre ambos grupos. De hecho, aunque se ha sugerido que esta molécula puede ser predictora de riesgo independiente, no todos los estudios confirman esta idea (296). En cuanto al FGRe, aunque en el análisis univariado existían diferencias, en el análisis multivariado no fue un predictor independiente de mal pronóstico. Parece posible que los niveles plasmáticos de calcidiol y también de FGF-23 sean marcadores más importantes de las anomalías que conducen al daño cardiovascular en la disfunción renal que el FGRe. Es de interés que los niveles de lípidos no fueron diferentes entre los pacientes que presentaron eventos y entre los que se mantuvieron estables. Aunque la implicación pronóstica de este parámetro es bien conocida, es posible que esta información sea menos útil en pacientes en prevención secundaria dado que en este contexto se recomienda la terapia intensiva con estatinas, y los niveles de lípidos son más homogéneos y por lo tanto pueden tener menos capacidad para discriminar el pronóstico.

Otro hallazgo de este estudio es que los niveles plasmáticos de FGF-23 son un predictor independiente de la aparición de eventos adversos. Los niveles de esta hormona fosfática se incrementan gradualmente en la ERC para prevenir la hiperfosforemia. El FGF-23 es también un inhibidor de la secreción de PTH y disminuye los niveles de vitamina D reduciendo su producción y aumentando el catabolismo (245,297) Los niveles plasmáticos elevados de FGF-23 se asocian con un aumento de

mortalidad en pacientes en diálisis (298). Aunque estos niveles podrían reflejar el déficit de vitamina D e hiperparatiroidismo, se ha planteado la hipótesis de si esta molécula por sí sola podría contribuir a la enfermedad cardiovascular. En este sentido, el FGF-23 se ha relacionado con disfunción endotelial, rigidez arterial, alta tasa de aterosclerosis en la población, calcificación vascular, HVI y progresión de enfermedad renal (252,253,259,264,299,300).

Varios estudios han mostrado diferentes resultados sobre la relación de cardiopatía isquémica crónica y FGF-23. En el Uppsala Longitudinal Study of Adult Men (ULSAM), los niveles plasmáticos aumentados de FGF-23 se asociaron con un incremento de la mortalidad cardiovascular en la población general, incluso después de ajustar por FGRe (264). Por otro lado, no se encontró una relación entre riesgo cardiovascular y FGF-23, PTH y fósforo plasmático en varones sin enfermedad cardiovascular después de ajustar para calcidiol y variables clínicas en el Health Professionals Follow-up Study (HPFS) (271). Sin embargo, las características de esta población eran bastante diferentes. En el estudio ULSAM, el 27% de los pacientes tenían diagnóstico previo de enfermedad cardiovascular, presentaba FGRe más bajos y se trataba de pacientes mayores y con niveles de FGF-23 más elevados que en el estudio HPFS. Por lo tanto, parece que el FGF-23 podría ser un marcador de eventos adversos en poblaciones con mayor riesgo cardiovascular. En este sentido, nuestro estudio incluía pacientes de alto riesgo, con un diagnóstico previo de cardiopatía isquémica crónica y un FGRe parecido a los pacientes del estudio ULSAM. Además, nuestros pacientes presentaban niveles plasmáticos más bajos de calcidiol y más altos de FGF-23, PTH y fósforo que los del estudio HPFS. Por último, el Heart and Soul Study mostró una relación entre el FGF-23 y la función renal en pacientes con cardiopatía

isquémica crónica (262). Nuestro estudio amplía esta observación investigando también la relación entre el valor pronóstico de FGF-23 y los niveles plasmáticos de vitamina D.

El hallazgo más relevante de nuestro trabajo ha sido que la capacidad predictiva de eventos adversos de los niveles plasmáticos bajos de calcidiol estaba limitada a aquellos casos en los que los niveles plasmáticos de FGF-23 eran superiores a la mediana, desapareciendo este valor predictivo cuando el FGF-23 era igual o menor que la mediana. Es de interés que la información pronóstica aportada por ambos metabolitos era independiente según el análisis multivariado. Este hallazgo es muy importante dado que se han analizado multitud de variables tanto clínicas como analíticas incluyendo niveles lipídicos y proteína C reactiva de alta sensibilidad.

El FGF-23 contribuye a disminuir los niveles de calcidiol. Un trabajo reciente demostró que los pacientes en prediálisis con niveles elevados de FGF-23 y bajos de vitamina D tienen mayor probabilidad de duplicar sus niveles de creatinina o de iniciar un programa de diálisis (249). Otro estudio que incluía pacientes con enfermedad renal crónica avanzada demostró que los niveles bajos de vitamina D se asociaban con mortalidad e inicio de programa de diálisis pero los niveles de FGF-23 atenuaba esta relación (250). Sin embargo, este trabajo evidencia por primera vez esta asociación en paciente con cardiopatía isquémica crónica. Esta relación nos podría ayudar a entender la razón por la que algunos estudios no encontraron una relación entre los niveles de la vitamina D y el pronóstico de estos enfermos (295). También podría ser relevante a la hora de explicar los resultados controvertidos obtenidos en estudios con suplementos de vitamina D (240,301,302) y debería tomarse en cuenta para el diseño de futuros ensayos clínicos, como el efecto de la vitamina D depende de los niveles

plasmáticos de FGF-23. Además como los suplementos de vitamina D podrían aumentar los niveles plasmáticos de FGF-23 (303) sería de interés monitorizar también estos niveles en futuros ensayos. Por tanto, los niveles de FGF-23 y calcidiol podrían ser tenidos en cuenta para el desarrollo de escalas de riesgo en pacientes con cardiopatía isquémica crónica.

### **Relación del metabolismo mineral y la hipertrofia ventricular**

Además de sus efectos sobre la función endotelial, la rigidez arterial o la proliferación de células musculares lisas (228), las alteraciones en el metabolismo mineral se han relacionado con el desarrollo de HVI (304). Los niveles de FGF-23 se han relacionado con el desarrollo de HVI en pacientes con enfermedad renal crónica (251,258) pero estos hallazgos han sido inconsistentes en pacientes con FGRe normal y cardiopatía isquémica crónica (305).

En nuestro estudio los niveles plasmáticos de FGF-23 no se correlacionaban con los valores del septo interventricular y no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre niveles de esta molécula entre los grupos que tenían HVI y los que no la tenían. Estos hallazgos fueron similares cuando repetimos el análisis en el subgrupo de pacientes con FGRe  $> 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$ . Además, no encontramos ninguna relación entre los niveles de calcidiol y la existencia de HVI. En la literatura previa no se evidenciaba una relación entre la HVI y los niveles plasmáticos de vitamina D (306,307,308).

Los niveles plasmáticos elevados de PTH se han relacionado con un aumento de la masa ventricular en pacientes con función renal disminuida (309). Recientemente, el

estudio ICELAND-MI encontró una relación entre los niveles plasmáticos de PTH y la masa ventricular en una cohorte comunitaria de pacientes ancianos (306). Además, la paratiroidectomía se ha asociado con una regresión de la HVI en el hiperparatiroidismo primario (310). Sin embargo no se ha encontrado esta asociación en pacientes con cardiopatía isquémica crónica. En nuestro trabajo, los niveles plasmáticos presentaban una correlación positiva con los valores del septo interventricular en pacientes con cardiopatía isquémica crónica y niveles normales de FGRe. Además, los niveles plasmáticos de PTH eran un predictor independiente de HVI junto a la edad y la FEVI > 40%. Esto es de interés ya que se estudiaron una gran cantidad de variables clínicas, incluyendo terapias antihipertensivas que podrían afectar a los grosores del SIV. Estos hallazgos se mantenían cuando repetíamos el análisis únicamente en aquellos pacientes con FGRe >60 ml/min/1.73m<sup>2</sup>.

El perfil de esta población, con escaso porcentaje de ERC, puede ser la causa de que no encontremos relación entre los niveles plasmáticos de FGF-23 y desarrollo de HVI y sí encontremos esa relación con los niveles plasmáticos de PTH.

Existen potenciales mecanismos por los que los niveles plasmáticos de PTH podrían dañar el sistema cardiaco. Primero, se ha demostrado que el estímulo de los receptores de PTH cardiacos produce un efecto trófico sobre los cardiomiocitos (311). Además, la PTH activa la vía de la protein Kinasa C, que podría conducir a HVI y a la expresión de proteínas fetales en los cardiomiocitos (311). Estos efectos de la PTH podrían contribuir a cambios bioquímicos y aumentar la masa ventricular, provocando fallo cardiaco (304,312,313). El exceso de PTH podría deberse a una inadecuada actividad biológica de la vitamina D (314), posiblemente como un mecanismo de feed-back ya que la PTH estimula la producción de calcidiol por los



riñones (315). También la sobrecarga de fosfato puede dar lugar a un aumento de los niveles de PTH (316). En este sentido en nuestro trabajo los niveles plasmáticos de PTH se correlacionaban inversamente con los niveles de calcidiol, pero no mostraron ninguna relación con los niveles de fósforo. En el ensayo clínico PRIMO, el paricalcitol, un activador de los receptores de vitamina D, fracasó en demostrar reducción de la masa ventricular en pacientes con enfermedad renal crónica, pero la toma de paricalcitol se asoció con un descenso en los niveles de péptidos natriuréticos y con menor incidencia de hospitalizaciones por insuficiencia cardíaca (240). Sin embargo, esta molécula podría tener acciones adicionales más allá de disminuir los niveles plasmáticos de PTH, y no se puede asegurar por estos resultados que la PTH no esté relacionada con el desarrollo de HVI.

### **Limitaciones.**

Existen limitaciones en este estudio:

1) No se midieron los niveles de albumina urinaria, por lo que se podrían haber infradiagnosticado estadios precoces de enfermedad renal crónica.

2) Excluir pacientes sin estabilidad clínica durante los primeros días después del evento índice podría crear cierto sesgo de selección, debido a que estos pacientes probablemente tienen un peor pronóstico. Sin embargo sólo el 9% de los casos se excluyeron por este motivo.

3) La definición de la HVI basada únicamente en el grosor del septo interventricular podría llevar a excluir pacientes con HVI limitada a la pared lateral del ventrículo izquierdo. Sin embargo, este tipo de hipertrofia es típica de pacientes con

miocardiopatías, que fueron excluidos de este estudio. Es cierto que la HVI secundaria a otras entidades no sólo desarrollan un patrón concéntrico, sino también uno asimétrico. Sin embargo, la definición aceptada de HVI asimétrica requiere espesores normales de la pared posterior (255), lo que implica que todos los pacientes con HVI tienen un grosor del septo IV mayor y que esta medición es válida para detectar HVI.

4) Hubiera sido de gran interés estudiar los niveles plasmáticos de Klotho, dado que los niveles plasmáticos normales de esta proteína, en esta población con FGRe, podrían ser una posible explicación a la falta de asociación entre los niveles de FGF- 23 y la existencia de HVI. Este punto debería ser considerado en futuros trabajos sobre este tema.

## CONCLUSIONES

En los pacientes con enfermedad coronaria crónica:

1. Existe una elevada prevalencia de alteraciones del metabolismo mineral.
2. Las alteraciones del metabolismo mineral están presentes en pacientes coronarios con FGRe normal y comienzan a acentuarse con FGRe < 90ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.
3. Los niveles elevados de FGF-23 y los niveles disminuidos de Vitamina D predicen de modo independiente la aparición de eventos adversos.
4. La capacidad predictiva de eventos adversos de los niveles plasmáticos bajos de Vitamina D está limitada a aquellos casos en los que los niveles plasmáticos de FGF-23 son superiores a la mediana, desapareciendo este valor predictivo cuando el FGF-23 es igual o menor que la mediana.
5. Los niveles plasmáticos de PTH, y no los niveles de FGF-23 ni de Vitamina D, son un predictor independiente de HVI.

## REFERENCIAS

1. Global status report on noncommunicable diseases 2010. Geneva, World Health Organization, 2011.
2. Mathers CD, Loncar D. Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. PLoS Me. 2006;3:e442.
3. Cabadés O'Callaghan A. The REGICOR registry and the epidemiology of myocardial infarction in Spain: forging a path. Rev Esp Cardiol. 2007;60:342-345
4. Sary HC. Evolution and progression of atherosclerosis lesions in coronary arteries of children and young adults. Arteriosclerosis. 1989;9:19-32
5. Global atlas on cardiovascular disease prevention and control. Geneva, World Health Organization, 2011.
6. Lloyd-Jones D, Adams RJ, Brown TM, Carnethon M, Dai S, De Simone G, Ferguson TB, Ford E, Furie K, Gillespie C, Go A, Greenlund K, Haase N, Hailpern S, Ho PM, Howard V, Kissela B, Kittner S, Lackland D, Lisabeth L, Marelli A, McDermott MM, Meigs J, Mozaffarian D, Mussolino M, Nichol G, Roger VL, Rosamond W, Sacco R, Sorlie P, Stafford R, Thom T, Wasserthiel-Smoller S, Wong ND, Wylie-Rosett J. Executive summary: heart disease and stroke statistics—2010 update: a report from the American Heart Association. Circulation. 2010;121:948–954
7. Nichols M, Townsend N, Luengo-Fernandez R, Leal J, Gray A, Scarborough P, et al. European Cardiovascular Disease Statistics 2012. European Heart Network, Brussels and European Society of Cardiology. Sophia Antipolis. 2012.
8. Ferreira-González I. The epidemiology of coronary heart disease. Rev Esp Cardiol. 2014;67:139-144.

9. Ergin A, Muntner P, Sherwin R, He J. Secular trends in cardiovascular disease mortality, incidence, and case fatality rates in adults in the United States. *Am J Med.* 2004;117:219–227.

10. Ford ES, Ajani UA, Croft JB, Critchley JA, Labarthe DR, Kottke TE, Giles WH, Capewell S. Explaining the decrease in U.S. deaths from coronary disease, 1980-2000. *N Engl J Med.* 2007;356:2388-2398.

11. Kotseva K, Wood D, De Bacquer D, De Backer G, Rydén L, Jennings C, Gyberg V, Amouyel P, Bruthans J, Castro Conde A, Cífková R, Deckers JW, De Sutter J, Dilic M, Dolzhenko M, Erglis A, Fras Z, Gaita D, Gotcheva N, Goudevenos J, Heuschmann P, Laucevicius A, Lehto S, Lovic D, Miličić D, Moore D, Nicolaides E, Oganov R, Pajak A, Pogossova N, Reiner Z, Stagmo M, Störk S, Tokgözoğlu L, Vulic D; on behalf of the EUROASPIRE Investigators. EUROASPIRE IV: A European Society of Cardiology survey on the lifestyle, risk factor and therapeutic management of coronary patients from 24 European countries. *Eur J Prev Cardiol.* 2015.pii: 2047487315569401. [Epub ahead of print].

12. The GUSTO investigators. An international randomized trial comparing four thrombolytic strategies for acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 1993;329:673-682.

13. Van De Werf F, Adgey J, et al. Single-bolus tenecteplase compared with front-loaded alteplase in acute myocardial infarction: the ASSENT-2 double-blind randomised trial. *Lancet.* 1999;354:716-722.

14. Cannon CP, Gibson CM, Lambrew CT, et al. Relationship of symptom onset-to-balloon time and door-to-balloon time with mortality in patients undergoing angioplasty for acute myocardial infarction. *JAMA.* 2000;283:2941-2947.

15. Stone GW, Grines CL, Cox DA, et al. Comparison of angioplasty with stenting, with or without abciximab, in acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 2002;346:957-966.

16. Steg PG, Goldberg RJ, Gore JM, et al. Baseline characteristics, management practices, and in-hospital outcomes of patients hospitalized with acute coronary syndromes in the Global Registry of Acute Coronary Events (GRACE). *Am J Cardiol.* 2002;90:358-363.

17. Hasdai D, Behar S, Wallentin L, et al. A prospective survey of the characteristics, treatments and outcomes of patients with acute coronary syndromes in Europe and the Mediterranean basin; the Euro Heart Survey of Acute Coronary Syndromes (Euro Heart Survey ACS). *Eur Heart J.* 2002;23:1190-1201.

18. Puymirat E, Simon T, Steg PG, et al. Association of changes in clinical characteristics and management with improvement in survival among patients with ST-elevation myocardial infarction. *JAMA.* 2012;308:998-1006.

19. Orozco-Beltran D, Cooper RS, Gil-Guillen V, Bertomeu-Martinez V, Pita-Fernandez S, Durazo-Arvizu R, et al. Tendencias en mortalidad por infarto de miocardio. Estudio comparativo entre España y Estados Unidos: 1990-2006. *Rev Esp Cardiol.* 2012;65:1079–1085.

20. Gil M, Martí H, Elosua R, et al. Análisis de la tendencia en la letalidad, incidencia y mortalidad por infarto de miocardio en Girona entre 1990 y 1999. *Rev Esp Cardiol.* 2007;60:349-356

21. Cabadés A, Echanove I, Cebrián J et al, en representación de los investigadores del PRIMVAC. Características, manejo y pronóstico del paciente con infarto de miocardio en la Comunidad Valenciana en 1995: resultados del registro

PRIMVAC (Proyecto de Registro de Infarto Agudo de Miocardio de Valencia Alicante y Castellón). *Rev Esp Cardiol.* 1999;52:123-133.

22. Dégano IR, Elosua R, Marrugat J. Epidemiología de la enfermedad cardiovascular en España en los últimos 20 años. *Epidemiología del síndrome coronario agudo en España: estimación del número de casos y la tendencia de 2005 a 2049.* *Rev Esp Cardiol.* 2013;66:472–481.

23. Barrabés JA, Bardají A, Jiménez-Candil J, Del Nogal Sáez F, Bodí V, Basterra N, Marco E, Melgares R, Cuñat de la Hoz J, Fernández-Ortiz A; investigators of the DIOCLES study. Prognosis and Management of Acute Coronary Syndrome in Spain in 2012: The DIOCLES Study. *Rev Esp Cardiol.* 2015;68:98-106.

24. Marrugat J, Elosua R, Martí H. Epidemiology of ischaemic heart disease in Spain: estimation of the number of cases and trends from 1997 to 2005. *Rev Esp Cardiol.* 2002;55:337-346.

25. Dawber TR, Moore Fe, Mann GV. Coronary heart disease in the Framingham study. *Am J Public Health.* 1957;47:4-24.

26. Dawber TR, Kannel WB, Revotskie N, et al. Some factors associated with the development of coronary heart disease: six years follow-up experience in the Framingham study. *Am J Public Health.* 1959;49:1349-1356.

27. The pooling project research group. Relationship of blood pressure, serum cholesterol, smoking habit, relative weight and ECG abnormalities to incidence of major coronary events: final report of the pooling project. *J Chronic Dis.* 1978;31:201-306.

28. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults. Executive Summary of The Third Report of The National

Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, And Treatment of High Blood Cholesterol In Adults (Adult Treatment Panel III). JAMA. 2001;285:2486-2497.

29. Greenland P, Knoll MD, Stamler J, et al. Major risk factors as antecedents of fatal and nonfatal coronary heart disease events. JAMA. 2003;290:891-897.

30. Yusuf S, Hawken S, Ounpuu S, et al. Effect of potentially modifiable risk factors associated with myocardial infarction in 52 countries (theINTERHEART study): case-control study. Lancet. 2004;364:937-952.

31. Eckel RH, York DA, Rössner S, et al. Prevention Conference VII: Obesity, a worldwide epidemic related to heart disease and stroke: executive summary. Circulation. 2004;110:2968-2975.

32. Calle EE, Thun MJ, Petrelli JM, et al. Body-mass index and mortality in a prospective cohort of U.S. adults. N Engl J Med. 1999;341:1097-1105.

33. Dong JY, Zhang YH, Wang P, et al. Meta-analysis of dietary glycemic load and glycemic index in relation to risk of coronary heart disease. Am J Cardiol. 2012;109:1608-1613.

34. Bernstein AM, Sun Q, Hu FB, et al. Major dietary protein sources and risk of coronary heart disease in women. Circulation. 2010;122:876-883.

35. Rimm EB, Ascherio A, Giovannucci E, et al. Vegetable, fruit, and cereal fiber intake and risk of coronary heart disease among men. JAMA. 1996;275:447-451.

36. Wolk A, Manson JE, Stampfer MJ, et al. Long-term intake of dietary fiber and decreased risk of coronary heart disease among women. JAMA. 1999;281:1998-2004.



37. Held C, Iqbal R, Lear SA, et al. Physical activity levels, ownership of goods promoting sedentary behaviour and risk of myocardial infarction: results of the INTERHEART study. *Eur Heart J*. 2012;33:452-466.
38. WHO-OMS. Global health risks: mortality and burden of disease attributable to selected major risks. Ginebra: World Health Organization; 2009;9.
39. Medrano MJ, Cerrato E, Boix R, Delgado-Rodríguez M. Cardiovascular risk factors in Spanish population: metaanalysis of cross-sectional studies. *Med Clin*. 2005;124:606-612.
40. Chow CK, Teo KK, Rangarajan S, Islam S, Gupta R, Avezum A, Bahonar A, Chifamba J, Dagenais G, Diaz R, Kazmi K, Lanas F, Wei L, Lopez-Jaramillo P, Fanghong L, Ismail NH, Puoane T, Rosengren A, Szuba A, Temizhan A, Wielgosz A, Yusuf R, Yusufali A, McKee M, Liu L, Mony P, Yusuf S; PURE (Prospective Urban Rural Epidemiology) Study investigators. Prevalence, awareness, treatment, and control of hypertension in rural and urban communities in high-, middle-, and low-income countries. *JAMA*. 2013;310:959-968.
41. Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham heart study. *N Engl J Med*. 1990;322:1561-1566.
42. Cuspidi C, Sala C, Negri F, Mancia G, Morganti A; Italian Society of Hypertension. Prevalence of left-ventricular hypertrophy in hypertension: an updated review of echocardiographic studies. *J Hum Hypertens*. 2012;26:343-349.
43. Renkin EM. Multiple pathways of capillary permeability. *Circ Res*. 1977;41:735-743.

44. Stein Y, Stein O. Interaction between serum lipoproteins and cellular components of the arterial wall. *Biochem.* 1977;7:313-344.
45. Vanhoutte PM. The endothelium: modulator of vascular smooth-muscle tone. *N Engl J Med.* 1988;319:512-513.
46. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA. Nitric oxide: physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacol Rev.* 1991;93:109-142.
47. Scott-Burden T, Vanhoutte PM. The endothelium as a regulator of vascular smooth muscle proliferation. *Circulation.* 1993;87:V51-V55.
48. Draijer R, Atsma DE, van der Laarse A, et al. CGMP and nitric oxide modulate thrombin-induced endothelial permeability: regulation via different pathways in human aortic and umbilical vein endothelial cells. *Circ Res.* 1995;76:199-208.
49. Cardona-Sanclemente LE, Born GV. Effect of inhibition of nitric oxide synthesis on the uptake of LDL and fibrinogen by arterial wall organs of the rat. *Br J Pharmacol.* 1995;114:1490-1494.
50. Skilton MR, Sullivan TR, Ayer JG, et al. Carotid extra-medial thickness in childhood: early life effects on the arterial adventitia. *Atherosclerosis.* 2012;222:478-482.
51. Campbell KA, Lipinski MJ, Doran AC, et al. Lymphocytes and the adventitial immune response in atherosclerosis. *Circ Res.* 2012;110:889-900.
52. Henry PD, Chen CH. Inflammatory mechanisms of atheroma formation. Influence of fluid mechanics and lipid-derived inflammatory mediators. *Am J Hypertens.* 1993;6:328S-334S.

53. Nollert MU, Diamond SL, McIntire LV. Hydrodynamic shear stress and mass transport modulation of endothelial cell metabolism. *Biotechnol Bioengineer.* 1991;38:588-602.

54. Carosi JA, Eskin SG, McIntire LV. Cyclical strain effects on production of vasoactive materials in cultured endothelial cells. *J Cell Physiol.* 1992;151:29-36.

55. Lin SJ, Jan KM, Weinbaum S, et al. Transendothelial transport of low density lipoprotein in association with cell mitosis in rat aorta. *Arteriosclerosis.* 1989;9:230-236.

56. Nielsen LB, Nordestgaard BG, Stender S, et al. Aortic permeability to LDL as a predictor of aortic cholesterol accumulation in cholesterol-fed rabbits. *Arterioscler Thromb.* 1991;12:1402-1409.

57. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med.* 1999;340:115-126.

58. Flavahan NA, Vanhoutte PM. G-protein and endothelial responses. *Blood vessels.* 1990;27:218-229.

59. Flavahan NA, Vanhoutte PM. Endothelial cell signaling and Endothelial Dysfunction. *Am J Hypertens.* 1995;8:28S-41S.

60. Harrison DG. Alteration of vasomotor regulation in atherosclerosis. *Cardiovasc Drugs Ther.* 1995;9:55-63.

61. Cox DA, Cohen ML. Effects of oxidized low-density lipoprotein on vascular contraction and relaxation: clinical and pharmacological implications in atherosclerosis. *Pharmacol Rev.* 1996;48:3-19.

62. Laufs U, La Fata V, Plutzky J, et al. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductase inhibitors. *Circulation.* 1998;97:1129-1135.

63. Ito A, Tsao PS, Adimoolam S, et al. Novel mechanism for endothelial dysfunction. Dysregulation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation*. 1999;99:3092-3095.
64. Bode-Boger SM, Boger RH, Kienke S, et al. Elevated L-arginine/dimethylarginine ratio contributes to enhanced systemic NO production by dietary L-arginine in hypercholesterolemic rabbits. *Biochem Biophys Res Commun*. 1996;219:598-603.
65. Beckman JS, Koppenol WH. Nitric oxide, superoxide and peroxynitrite: the good, the bad and the ugly. *Am J Physiol*. 1996;271:C1424-1437.
66. Dzau DJ. Mechanism of protective effects of ACE inhibition on coronary artery disease. *Eur Heart J*. 1998;19(Suppl J):J2-J6.
67. Reilly M, Delanty N, Lawson JA, et al. Modulation of oxidant stress *in vivo* in chronic cigarette smokers. *Circulation*. 1996;94:19-25.
68. Ohara Y, Peterson TE, Harrison DG. Hypercholesterolemia increases endothelial superoxide anion production. *J Clin Invest*. 1993;91:2546-2551.
69. Liu S, Beckman JS, Ku DD. Peroxynitrite, a product of superoxide and nitric oxide, produces coronary vasorelaxation in dogs. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994;268:1114-1121.
70. Moro MA, Darley-Usmar VM, Goodwin DA, et al. Paradoxical fate and biological action of peroxynitrite on human platelets. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91:6702-6706.
71. Lefer DJ, Scalia F, Campbell B, et al. Peroxynitrite inhibits leukocyte endothelial cell interactions and protects against ischemia-reperfusion injury in rats. *J Clin Invest*. 1997;99:684-691.

72. Moro MA, Darley-USmar VM, Lizasoain I, et al. The formation of nitric oxide donors from peroxynitrite. *Br J Pharmacol* 1995;116:1999-2004.
73. Ischiropoulos H, Al-Mehdi AB. Peroxynitrite-mediated oxidative protein modifications. *FEBS Lett*. 1995;364:279-282.
74. Beckman JS, Beckman TW, Chen J, et al. Apparent hydroxylradical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1990;87:1620-1624.
75. Pryor WA, Squadrito GL. The chemistry of peroxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide and superoxide. *Am J Physiol*. 1995;268:L699-L722.
76. Butterly LD, Springall DR, Chester AH, et al. Inducible nitric oxide synthase is present within human atherosclerotic lesions and promotes the formation and activity of peroxynitrite. *Lab Invest*. 1996;75:77-85.
77. Rajagopalan S, Harrison DG. Reversing endothelial dysfunction with ACE inhibitors. A new trend?. *Circulation*. 1996;94:240-243.
78. Griending KH, Mineri CA, Ollerenshaw JD, et al. Angiotensin II stimulates NADH and NADPH oxidase activity in cultured vascular smooth muscle cell. *Circ Res*. 1994;74:1141-1148.
79. Rajagopalan S, Kurz S, Münzel T, et al. Angiotensin II-mediated hypertension in the rat increases vascular superoxide production via membrane NADH/NADPH oxidase activation. Contribution to alterations to vasomotor tone. *J Clin Invest*. 1996;97:1916-1923.
80. Mancini GBJ, Henry GC, Macaya C, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibition with quinapril improves endothelial vasomotor dysfunction in patients with coronary artery disease. The TREND study. *Circulation*. 1996;94:258-265.

81. Dietz F, Dzau VJ, Pratt RE. Increased accumulation of tissue ACE in human atherosclerotic coronary artery disease. *Circulation* 1996;94:2766-2767.

82. Tuñón J, Martín-Ventura JL, Gómez-Hernández A et al. Etiopatogenia y correlaciones clínicas de la aterotrombosis. En: Ejido J, Tuñón J, López Bescós (editores). *Aterotrombosis: De la disfunción endotelial a la regeneración miocárdica*. Editorial Línea de Comunicación, Madrid, 2004:19-37

83. Goldschmid MG, Barrett-Connor E, Edelstein SL, et al. Dyslipidemia and ischemic heart disease mortality among men and women with diabetes. *Circulation*. 1994;89:991-997.

84. Aronson D, Rayfield EJ. Diabetes and obesity. In: Fuster V, Ross R, Topol EJ eds. *Atherosclerosis and coronary artery disease*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996:327-359.

85. Sigurdsson G Jr, Gudnason V, Sigurdsson G, et al. Interaction between a polymorphism of the apo A-I promoter region and smoking determines plasma levels of HDL and apo A-I. *Arterioscler Thromb*. 1992;12:1017-1022.

86. McCall MR, van den Berg JJ, Kuypers FA, et al. Modification of LCAT activity and HDL structure: New links between cigarette smoke and coronary heart disease risk. *Arterioscler Thromb*. 1994;14:248-253.

87. Bucala R, Makita Z, Vega G, et al. Modification of low-density lipoprotein by advanced glycation end products contributes to the dyslipidemia of diabetes and renal insufficiency. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1994;91:9441-9445

88. Steinbrecher UP, Witztum JL. Glycosylation of low density lipoproteins to an extent comparable to that seen in diabetics slows their catabolism. *Diabetes*. 1984;33:130-134.

89. Fuster V. Coronary artery disease: a clinical-pathological correlation. New York: Fuster V (ed.): Futura Publishing, 1996.

90. Camejo G, Hurt-Camejo E, Wiklund O, et al. Association of apo B lipoproteins with arterial proteoglycans: pathological significance and molecular basis. *Atherosclerosis*. 1998;139:205-222.

91. Shyy YJ, Hsieh HJ, Usami S, et al. Fluid shear stress induces a biphasic response of human monocyte chemotactic protein 1 gene expression in vascular endothelium. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1994;91:4678-4682.

92. Bustos C, Hernández-Presa MA, Ortego M, et al. HMG-CoA reductase inhibition by atorvastatin reduces neointimal inflammation in a rabbit model of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 1998;32:2057-2064.

93. Barnes PJ, Karin M. Nuclear factor-B. A pivotal transcription factor in chronic inflammatory diseases. *N Eng J Med*. 1997;336:1066-1071.

94. Xu XP, Meisel SR, Ong JM, et al. Oxidized low-density lipoprotein regulates matrix metalloproteinase-9 and its tissue inhibitor in human monocyte-derived macrophage. *Circulation*. 1999;99:993-998.

95. Robbesyn F, Garcia V, Auge N, et al. HDL counter balance the proinflammatory effect of oxidized LDL by inhibiting intracellular reactive oxygen species rise, proteasome activation, and subsequent NF-kappa B activation in smooth muscle cells. *FASEB J*. 2003;17:743-745.

96. Tsao PS, Wang B, Buitrago R, et al. Nitric oxide regulates monocyte chemotactic protein-1. *Circulation*. 1997;96:934-940.

97. Collins T. Endothelial nuclear factor-B and the initiation of the atherosclerotic lesion. *Lab Invest*. 1993;68:499-508.

98. Li H, Cybulsky MI, Gimbrone MA Jr, et al. An atherogenic diet rapidly induces VCAM-1, a cytokine-regulatable mononuclear leukocyte adhesion molecule, in rabbit aortic endothelium. *Arterioscler Thromb*. 1993;13:197-204.
99. Poston RN, Haskard DO, Coucher JR, et al. Expression of intercellular adhesion molecule-1 in atherosclerotic plaques. *Am J Pathol*. 1992; 140:665-673.
100. Davies MJ, Gordon JL, Gearing AJ, et al. The expression of the adhesion molecules ICAM-1, VCAM-1, PECAM, and E-selectin in human atherosclerosis. *J Pathol*. 1993;171:223-229.
101. Inoue S, Egashira K, Ni W, et al. Anti-monocyte chemoattractant protein-1 gene therapy limits progression and destabilization of established atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice. *Circulation*. 2002;106:2700-2706.
102. Nelken NA, Coughlin SR, Gordon D, et al. Monocyte chemoattractant protein-1 in human atheromatous plaques. *J Clin Invest*. 1991;88:1121-1127.
103. Hernández-Presa M, Bustos C, Ortego M, et al. Angiotensin Converting enzyme inhibition prevents arterial NF- $\kappa$ B activation, MCP-1 expression and macrophage infiltration in a rabbit model of early accelerated atherosclerosis. *Circulation*. 1997;95:1532-1541.
104. Mach F, Sauty A, Iarossi AS, et al. Differential expression of three T lymphocyte-activating CXC chemokines by human atheroma associated cells. *J Clin Invest*. 1999;104:1041-1050
105. Burleigh ME, Babaev VR, Oates JA, et al. Cyclooxygenase-2 promotes early atherosclerotic lesion formation in LDL receptor-deficient mice. *Circulation*. 2002;105:1816-1823.



106. De Caterina R, Zampolli A. From asthma to atherosclerosis. 5-lipoxygenase, leukotrienes, and inflammation. *N Engl J Med*. 2004;350:4-7.
107. Cyrus T, Witztum JL, Rader DJ, et al. Disruption of the 12/15-lipoxygenase gene diminishes atherosclerosis in apo E-deficient mice. *J Clin Invest*. 1999;103:1597-1604.
108. Keidar S, Kaplan M, Shapira C, et al. Low-density lipoprotein isolated from patients with essential hypertension exhibits increased propensity for oxidation and enhanced uptake by macrophages: a possible role for angiotensin II. *Atherosclerosis*. 1994;107:71-84.
109. Bucala R, Makita Z, Koschinsky T, et al. Lipid advanced glycosylation: pathway for lipid oxidation in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1993;90:6434-6438.
110. Schwartz CJ, Chandler AB. Coronary atherosclerotic disease: pathological background. In Fuster V (ed.): *Syndromes of Atherosclerosis*, New York, 1996:17-32.
111. Gawaz M, Neumann FJ, Dickfeld T, et al. Activated platelets induce monocyte chemotactic protein-1 secretion and surface expression of intercellular adhesion molecule-1 on endothelial cells. *Circulation*. 1998;98:1164-1171.
112. Schwartz SM, deBlois D, O'Brien ER. The intima. Soil for atherosclerosis and restenosis. *Circ Res*. 1995;77:445-465.
113. Stary HC, Chandler AB, Dinsmore RE, et al. A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*. 1995;92:1355-1374.

114. Jawien A, Bowen-Pope DF, Lindner V, et al. Platelet-derived growth factor promotes smooth-muscle migration and intimal thickening in a rat model of balloon angioplasty. *J Clin Invest.* 1992;89:507-511.

115. Hu Y, Zhang Z, Torsney E, et al. Abundant progenitor cells in the adventitia contribute to atherosclerosis of vein grafts in ApoE-deficient mice. *J Clin Invest.* 2004;113:1258-1265.

116. Shibutani T, Kanda A, Ishigai Y, et al. Inhibitory effect of perindopril, a novel angiotensin-converting enzyme inhibitor, on neointima formation after balloon injury in rats and cholesterol-fed rabbits. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1994;24:509-516.

117. Rakugi H, Wang DS, Dzau VJ, et al. Potential importance of tissue angiotensin-converting enzyme inhibition in preventing neointima formation. *Circulation.* 1994;90:449-455.

118. Powell JS, Clozel JP, Müller RKM, et al. Inhibitors of angiotensin converting enzyme prevent myointimal proliferation after vascular injury. *Science.* 1989;245:186-188.

119. Naftilan AJ, Pratt RE, Dzau VJ. Induction of platelet-derived growth factor A-chain and myc gene expressions by angiotensin II incultured rat vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest.* 1989;83:1419-1424.

120. Aikawa M, Kim HS, Kuro-o M, et al. Phenotypic modulation of smooth muscle cells during progression of human atherosclerosis as determined by altered expression of myosin heavy chain isoforms. *Ann NY Acad Sci.* 1995;748:578-585.

121. Amento EP, Ehsani N, Palmer H, et al. Cytokines and growth factors positively and negatively regulate interstitial collagen gene expression in human vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb.* 1991;11:1223-1230.

122. Oemar BS, Werner A, Garnier JM, et al. Human connective tissue growth factor is expressed in advanced atherosclerotic lesions. *Circulation*. 1997;18: 831–839.
123. Tuñón J, Ruiz-Ortega M, Egido J. Regulation of matrix proteins and impact on vascular structure. *Current Hypertension Reports*. 2000;2:106-113 .
124. Dollery CM, McEwan JR, Henney AM. Matrix metalloproteinases and cardiovascular disease. *Circ Res*. 1995;77:863-868.
125. Bendeck MP, Irvin C, Reidy MA. Inhibition of matrix metalloproteinase activity inhibits smooth muscle cell migration but not neointimal thickening after arterial injury. *Circ Res*. 1996;78:38-43.
126. Glagov S, Weisenberg E, Zarins CK, et al. Compensatory enlargement of human atherosclerotic coronary arteries. *N Engl J Med*. 1987;316:1371-1375.
127. O'Brien ER, Garvin MR, Dev R, et al. Angiogenesis in human coronary atherosclerotic plaques. *Am J Pathol*. 1994;145:883-894.
128. Kolodgie FD, Gold HK, Burke AP, et al. Intraplaque hemorrhage and progression of coronary atheroma. *N Engl J Med*. 2003;349:2316-2325.
129. Raitakari OT, Juonala M, Kahonen M, et al. Cardiovascular risk factors in childhood and carotid artery intima-media thickness in adulthood: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *JAMA*. 2003;290:2277-2283.
130. Jang IK, Lassila R, Fuster V. Atherogenesis and inflammation. *Eur Heart J* 1993;14:2-6.
131. McNamara CA, Sarembock IJ, Gimble LW, et al. Thrombin stimulates proliferation of cultured rat aortic smooth muscle cells by a proteolytically activated receptor. *J Clin Invest*. 1993;91:94-98.

132. Webber BJ, Seguin PG, Burnett DG, et al. Prevalence of and risk factors for autopsy-determined atherosclerosis among US service members, 2001-2011. *JAMA*. 2012;308:2577-2583.
133. Little WC, Constantinescu M, Applegate RJ, et al. Can coronary angiography predict the site of a subsequent myocardial infarction in patients with mild-to-moderate coronary artery disease?. *Circulation*. 1988; 78:1157-1166.
134. Ambrose JA, Tannenbaum MA, Alexopoulos D, et al. Angiographic progression of coronary artery disease and the development of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 1988;12:56-62.
135. Mann JM, Davies MJ. Vulnerable plaque. Relation of characteristics to degree of stenosis in human coronary arteries. *Circulation*. 1996; 94:928-931.
136. Schoenhagen P, Ziada KM, Kapadia SR, et al. Extent and direction of arterial remodeling in stable versus unstable coronary syndromes: an intravascular ultrasound study. *Circulation*. 2000;101:598-603.
137. Davies MJ. Stability and instability: two faces of coronary atherosclerosis. *Circulation*. 1996;94:2013-2020.
138. Falk E, Shah PK, Fuster V. Pathogenesis of plaque disruption. Atherosclerosis and coronary artery disease. IN Fuster V. Ross R and Topol EJ editors. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1996:491-507.
139. Reikter MD, Zhang K, Narayanan AS, et al. Type I collagen gene expression in human atherosclerosis. Localization to specific plaque regions. *Am J Pathol*. 1993;143:1634-1648.

140. Loree HM, Kamm RD, Stringfellow RG, et al. Effects of fibrous cap thickness on peak circumferential stress in model atherosclerotic vessels. *Circ Res.* 1992;71:850-858.
141. Burleigh MC, Briggs AD, Lendon CL, et al. Collagen types I and III, collagen content, GAGs and mechanical strength of human atherosclerotic plaque caps: Span-wise variations. *Atherosclerosis.* 1992;96:71-81.
142. Stein PD, Hamid MS, Shivkumar K, et al. Effects of cyclic flexion of coronary arteries on progression of atherosclerosis. *Am J Cardiol.* 1994;73:431-437.
143. Cheng GC, Loree HM, Kamm RD, et al. Distribution of circumferential stress in ruptured and stable atherosclerotic lesions. A structural analysis with histopathological correlation. *Circulation.* 1993;87:1179-1187.
144. Van der Wal AC, Becker AE, Van der Loos CM, et al. Site of intimal rupture or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. *Circulation.* 1994;89:36-44.
145. Moreno PR, Falk E, Palacios IF, et al. Macrophage infiltration in acute coronary syndromes: implication for plaque rupture. *Circulation.* 1994;90:775-778.
146. Stefanadis C, Toutouzas K, Tsiamis E, et al. Increased local temperature in human coronary atherosclerotic plaques: an independent predictor of clinical outcome in patients undergoing a percutaneous coronary intervention. *J Am Coll Cardiol.* 2001;37:1277-1283.
147. Falk E, Shah PK, Fuster V. Coronary plaque disruption. *Circulation.* 1995;92:657-671.

148. Matrisian LM. The matrix-degrading metalloproteinase. *BioEssays*. 1992;14:455-463.
149. Weitkamp B, Cullen P, Plenz G, et al. Human macrophages synthesize type VIII collagen in vitro and in the atherosclerotic plaque. *FASEB J*. 1999;13:1445-1457.
150. Fitzsimmons C, Proudfoot D, Bowyer DE. Monocyte prostaglandins inhibit procollagen secretion by human vascular smooth muscle cells: implications for plaque stability. *Atherosclerosis*. 1999;142:287-293.
151. Leskinen MJ, Kovanen PT, Lindstedt KA. Regulation of smooth muscle cell growth, function and death in vitro by activated mast cells. A potential mechanism for the weakening and rupture of atherosclerotic plaques. *Biochem Pharmacol*. 2003;66:1493-1498.
152. Ihara M, Urata H, Kinoshita A, et al. Increased chymase dependent angiotensin II formation in human atherosclerotic aorta. *Hypertension*. 1999;33:1399-1405.
152. Kaartinen M, van der Wal AC, van der Loos CM, et al. Mast cell infiltration in acute coronary syndromes: implications for plaque rupture. *J Am Coll Cardiol*. 1998;32:606-612.
153. Laine P, Kaartinen M, Penttilä A, et al. Association between myocardial infarction and the mast cells in the adventitia of the infarct related coronary artery. *Circulation*. 1999;99:361-369.
155. Casale PN, Jones JL, Wolf FE, et al. Patients treated by cardiologists have a lower in-hospital mortality for acute myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 1998;32:885-889.

156. Wilson SH, Best PJ, Edwards WD, et al. Nuclear factor-kappa immunoreactivity is present in human coronary plaque and enhanced in patients with unstable angina pectoris. *Atherosclerosis*. 2002;160:147-153
157. Martin-Ventura JL, Blanco-Colio LM, Muñoz-García B, et al. NF kappa B activation and Fas ligand over expression in blood and plaques of patients with carotid atherosclerosis: potencial implication in plaque instability. *Stroke*. 2004;35:458-463.
158. Schonbeck U, Libby P. CD40 signaling and plaque instability. *CircRes*. 2001;89:1092-1103.
159. Bavendiek U, Libby P, Kilbride M, et al. Induction of tissue factor expression in human endothelial cells by CD40 ligand is mediated via activator protein 1, nuclear factor kappa B, and Egr-1. *J Biol Chem*. 2002;277:25032-25039.
160. Lutgens E, Cleutjens KB, Heeneman S, et al. Both early and delayed anti-CD40L antibody treatment induces a stable plaque phenotype. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2000;97:7464-7469.
161. Kai H, Ikeda H, Yasukawa H, et al. Peripheral blood levels of matrix metalloproteases -2 and -9 are elevated in patients with acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol*. 1998;32:368-372.
162. Ritchie ME. Nuclear factor-B is selectively and markedly activated in humans with unstable angina pectoris. *Circulation*. 1998;98:1707-1713.
163. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, et al. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med*. 1997;336:973-979.

164. Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, et al. Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol. *Circulation*. 1998;198:839-844.

165. Ridker PM, Hennekens CH, Roitman-Johnson B, et al. Plasma concentration of soluble intercellular adhesion molecule 1 and risks of future myocardial infarction in apparently healthy men. *Lancet*. 1998;351:88-92.

166. de Lemos JA, Morrow DA, Sabatine MS, et al. Association between plasma levels of monocyte chemoattractant protein-1 and long term clinical outcomes in patients with acute coronary syndromes. *Circulation*. 2003;107: 690-695.

167. Heeschen C, Dimmeler S, Hamm CW, et al. Soluble CD40 ligand in acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 2003;348:1104-1111.

168. Martín-Ventura JL, Blanco-Colio LM, Muñoz-García B, et al. NF- $\kappa$ B activation and fas-ligand over expression in blood and plaques of patients with carotid atherosclerosis: potential implication in plaque instability. *Stroke*. 2004;35:458-463.

169. Hernández-Presa MA, Bustos C, Ortego M, et al. The ACE inhibitor quinapril reduces the arterial expression of NF- $\kappa$ B dependent proinflammatory factors but not of collagen in a rabbit model of atherosclerosis. *Am J Pathol* 1998;153:1825-1837.

170. Martín-Ventura JL, Blanco-Colio LM, Gómez-Hernández, et al. Intensive treatment with atorvastatin reduces inflammation in mononuclear cells and human atherosclerotic lesions in one month. *Stroke*. 2005;36:1796-1800.

171. Ortego M, Bustos C, Hernández-Presa MA, et al. Atorvastatin reduces NF- $\kappa$ B activation and chemokine expression in vascular smooth muscle cells and mononuclear cells. *Atherosclerosis*. 1999;147:253-261.



172. Blanco-Colio L, Valderrama M, Álvarez-Sala LA, et al. Red wine intake prevents nuclear factor k-B activation in peripheral blood mononuclear cells of healthy volunteers during postprandial lipemia. *Circulation*. 2000;102:1020-1126.

173. Andre P, Prasad KS, Denis CV, et al. CD40L stabilizes arterial thrombi by a beta3 integrin--dependent mechanism. *Nat Med*. 2002;8:247-252.

174. Isner JM, Kearney M, Bortman S, et al. Apoptosis in human atherosclerosis and restenosis. *Circulation*. 1995;91:2703-2711.

175. Hetts SW. To die or not to die. An overview of apoptosis and its role in disease. *JAMA*. 1998;279:300-307.

176. Mallat Z, Bénédicte H, Ohan J, et al. Shed membrane microparticles with procoagulant potential in human atherosclerotic plaques. A role for apoptosis in plaque thrombogenicity. *Circulation*. 1999;99:348-353.

177. Hutter R, Valdiviezo C, Sauter BV, et al. Caspase-3 and tissue factor expression in lipid-rich plaque macrophages: evidence for apoptosis as link between inflammation and atherothrombosis. *Circulation*. 2004;109:2001-2008.

178. Bauriedel G, Hutter R, Welsch U, et al. Role of smooth muscle cell death in advanced coronary primary lesions: implications for plaque instability. *Cardiovasc Res*. 1999;41:480-488.

179. Hishikawa K, Oemar BS, Tanner FC, et al. Overexpression of connective tissue growth factor gene induces apoptosis in human aortic smooth muscle cells. *Circulation*. 1999;100:2108-2121.

180. Libby P, Egan D, Skarlatos S. Roles of infectious agents in atherosclerosis and restenosis. An assessment of the evidence an need for future research. *Circulation*. 1997;96:4095-4103.

181. Dechend R, Maas M, Gieffers J, et al. Chlamydia pneumonia infection of vascular smooth muscle and endothelial cells activates NF-Band induces tissue factor and PAI-1 expression. *Circulation*.1999;100:1369-1373.

182. Bachmaier K, Neu N, LM de la Maza, et al. Chlamydia infections and heart disease linked through antigenic mimicry. *Science*. 1999;283:1335-1339.

183. Weis M, Kledal TN, Lin KY. Cytomegalovirus Infection Impairs the Nitric Oxide Synthase Pathway: Role of Asymmetric Dimethylarginine in Transplant Arteriosclerosis. *Circulation*. 2004;109:500-505.

184. Ridker PM, Hennekens CH, Stampfer MJ, et al. Prospective study of herpes simplex virus, cytomegalovirus, and the risk of future myocardial infarction and stroke. *Circulation*. 1998;98:2796-2799.

185. Ridker PM, Kundsinn RB, Stampfer MJ, et al. Prospective study of Chlamydia Pneumoniae IgG seropositivity and risks of future myocardial infarction. *Circulation* 1999;99:1161-1164.

186. Gupta S, Leatham EW, Carrington D, et al. Elevated Chlamydia pneumoniae antibodies, cardiovascular events, and azithromycin in male survivors of myocardial infarction. *Circulation*. 1997;96:404-407

187. Anderson JL, Muhlestein JB, Carlquist J, et al. Randomized secondary prevention trial of azithromycin in patients with coronary artery disease and serological evidence for Chlamydia Pneumoniae infection. *Circulation*. 1999;99:1540-1547.

188. Muhlestein JB, Anderson JL, Carlquist JF, et al. Randomized secondary prevention trial of azithromycin in patients with coronary artery disease. Primary clinical results of the ACADEMIC study. *Circulation*. 2000;102:1755-1760.

189. O'connor CM, Dunne MW, Pfeffer M, et al. Azithromycin for the secondary prevention of coronary heart disease events: the wizard study: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2003;290:1459-1466.
190. Zahn R, Schneider S, Frilling B, et al. Antibiotic therapy after acute myocardial infarction: a prospective randomized study. *Circulation*. 2003;107:1253-1259.
191. Davies MJ, Woolf N, Rowles PM, et al. Morphology of the endothelium over atherosclerotic plaques in human coronary arteries. *BrHeart J*. 1998;60:459-464.
192. Farb A, Burke AP, Tang AL, et al. Coronary plaque erosion without rupture into a lipid core: a frequent cause of coronary thrombosis in sudden coronary death. *Circulation*. 1996;93:1354-1363.
193. Berenson GS, Radhakrishnamurty B, Srinivasan SR, et al. Arterial wall injury and proteoglycan changes in atherosclerosis. *Arch Pathol Lab Med*. 1988;112:1002-1010.
194. Rauch U, Bonderman D, Bohrmann B, et al. Transfer of tissue factor from leukocytes to platelets is mediated by CD15 and tissue factor. *Blood*. 2000;96:170-175.
195. Laszik ZG, Zhou XJ, Ferrell GL, et al. Down-regulation of endothelial expression of endothelial cell protein C receptor and thrombomodulin in coronary atherosclerosis. *Am J Pathol*. 2001;159:797-802.
196. ArthamSM, Lavie CJ, Milani RV, Patel DA, Verma A, Ventura HO. Clinical impact of left ventricular hypertrophy and implications for regression. *Prog Cardiovasc Dis*. 2009;52:153-167.

197. Milani RV, Drazner MH, Lavie CJ, Morin DP, Ventura HO. Progression from concentric left ventricular hypertrophy and normal ejection fraction to left ventricular dysfunction. *Am J Cardiol.* 2011;108:992-996.
198. Verdecchia, P., Carini, G., Circo, A., Dovellini, E., Giovannini, E., Lombardo, M. al. Left ventricular mass and cardiovascular morbidity in essential hypertension: the MAVI study. *J Am Coll Cardiol.* 2001;38:1829–1835.
199. Schillaci, G., Verdecchia, P., Porcellati, C., Cuccurullo, O., Cosco, C., and Perticone, F. Continuous relation between left ventricular mass and cardiovascular risk in essential hypertension. *Hypertension.* 2000;35:580–586
200. Ghali, J.K., Liao, Y., Simmons, B., Castaner, A., Cao, G., and Cooper, R.S. The prognostic role of left ventricular hypertrophy in patients with or without coronary artery disease. *Ann Intern Med.* 1992;117:831–836
201. Verma, A., Meris, A., Skali, H., Ghali, J.K., Arnold, J.M., Bourgoun, M. et al. Prognostic implications of left ventricular mass and geometry following myocardial infarction: the VALIANT (VALsartan In Acute myocardial iNfarctiOn) Echocardiographic Study. *JACC Cardiovasc Imaging.* 2008;1:582–591.
202. Lavie CJ, Ventura HO, Messerli FH. Left ventricular hypertrophy. Its relationship to obesity and hypertension. *Postgrad Med.* 1992;91:131-143.
203. Lee M, Gardin JM, Lynch JC, et al. Diabetes mellitus and echocardiographic left ventricular function in free-living elderly men and women: the Cardiovascular Health Study. *Am Heart J.* 1997;133:36-43.
204. de Simone G, Palmieri V, Bella JN, et al. Association of left ventricular hypertrophy with metabolic risk factors: the HyperGEN study. *J Hypertens.* 2002;20:323-331.

205. Kannel WB, Gordon T, Castelli WP, et al. Electrocardiographic left ventricular hypertrophy and risk of coronary heart disease: the Framingham study. *Ann Intern Med.* 1970;72:813-822.
206. Carabello BA. The relationship of left ventricular geometry and hypertrophy to left ventricular function in valvular heart disease. *J Heart Valve Dis.* 1995(Suppl 2):S132-S138.
207. Drazner MH, Dries DL, Peshock RM, et al. Left ventricular hypertrophy is more prevalent in blacks than whites in the general population: the Dallas Heart Study. *Hypertension.* 2005;4:124-129.
208. Wachtell K, Bella JN, Rokkedal J, et al. Change in diastolic left ventricular filling after one year of antihypertensive treatment: the Losartan Intervention for Endpoint Reduction in Hypertension (LIFE) study. *Circulation.* 2002;105:1071-1076.
209. Messerli FH, Ventura HO, Elizardi DJ, et al. Hypertension and sudden death: increased ventricular ectopic activity in left ventricular hypertrophy. *Am J Med.* 1984;77:18-22.
210. Haider AW, Larson MG, Benjamin EJ, et al. Increased left ventricular mass and hypertrophy are associated with increased risk for sudden death. *J Am Coll Cardiol.* 1998;32:1454-1459.
211. Wachtell K, Okin PM, Olsen MH, et al. Regression of electrocardiographic left ventricular hypertrophy during antihypertensive therapy and reduction in sudden cardiac death. *Circulation.* 2007;116:700-705.
212. Verdecchia P, Reboldi G, Gattobigio R, et al. Atrial fibrillation in hypertension: predictors and outcome. *Hypertension.* 2003;41:218-223.

213. Wachtell K, Lehto M, Gerds E, et al. Angiotensin II receptor blockade reduces new-onset atrial fibrillation and subsequent stroke compared to atenolol: the Losartan Intervention for Endpoint Reduction in Hypertension (LIFE) study. *J Am Coll Cardiol*. 2005;45:712-719.
214. Okin PM, Wachtell K, Devereux RB, et al. Regression of electrocardiographic left ventricular hypertrophy and decreased incidence of new-onset atrial fibrillation in patients with hypertension. *JAMA*. 2006;296:1242-1248.
215. Jones G, Strugnell SA, DeLuca HF. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol Rev*. 1998;78:1193–1231.
216. Martin A, David V, Quarles LD. Regulation and function of the FGF23/klotho endocrine pathways. *Physiol Rev*. 2012;92:131-55.
217. Quarles LD. Endocrine functions of bone in mineral metabolism regulation. *J Clin Invest*. 2008;118:3820-3828. Review. Erratum in: *J Clin Invest*. 2009;119:421.
218. Maalouf NM. The noncalcitropic actions of vitamin D: recent clinical developments. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2008;17:408-15.
219. Williams CJB. Cod liver oil in phthisis. *London J Med*. 1849;1:1–18.
220. Stroder J, Kasal P. Evaluation of phagocytosis in rickets. *Acta Paediatr Scand*. 1970; 59:288–292.
221. Bar-Shavit Z, Noff D, Edelstein S, et al. 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> and the regulation of macrophage function. *Calcif Tissue Int*. 1981;33:673–676.
222. Kurtzke JF. Geography in multiple sclerosis. *J Neurol*. 1977;215:1–26.
223. Kamen DL, Cooper GS, Bouali H, et al. Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev*. 2006;5:114–117.

224. Wu K, Feskanich D, Fuchs CS, et al. A nested case control study of plasma 25-hydroxyvitamin D concentrations and risk of colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst.* 2007;99:1120–1129.

225. Giovannucci E. Strengths and limitations of current epidemiologic studies: vitamin D as a modifier of colon and prostate cancer risk. *Nutr Rev.* 2007;65:S77–S79.

226. Knight JA, Lesosky M, Barnett H, et al. Vitamin D and reduced risk of breast cancer: a population-based case-control study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16:422–429.

227. Skinner HG, Michaud DS, Giovannucci E, et al. Vitamin D intake and the risk for pancreatic cancer in two cohort studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006;15:1688–1695.

228. Watson KE, Abrolat ML, Malone LL, Hoeg JM, Doherty T, Detrano R, Demer LL. Active serum vitamin D levels are inversely correlated with coronary calcification. *Circulation.* 1997;96:1755-1760.

229. Forman JP, Giovannucci E, Holmes MD, Bischoff-Ferrari HA, Tworoger SS, Willett WC, Curhan GC. Plasma 25-hydroxyvitamin D levels and risk of incident hypertension. *Hypertension.* 2007;49:1063-1069.

230. Dobnig H, Pilz S, Scharnagl H, Renner W, Seelhorst U, Wellnitz B, Kinkeldei J, Boehm BO, Weihrauch G, Maerz W. Independent association of low serum 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D levels with all-cause and cardiovascular mortality. *Arch Intern Med.* 2008;168:1340-1349.

231. Grandi NC, Breitling LP, Brenner H. Vitamin D and cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Prev Med.* 2010;51:228-233.

232. Gonzalez-Parra E, Rojas-Rivera J, Tuñón J, Praga M, Ortiz A, Egido J. Vitamin D receptor activation and cardiovascular disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27 Suppl 4:iv17-21.
233. Lopez I, Mendoza FJ, Aguilera-Tejero E et al. The effect of calcitriol, paricalcitol, and a calcimimetic on extra osseous calcifications in uremic rats. *Kidney Int*. 2008;73:300–307.
234. Guerrero F, Montes de Oca A, Aguilera-Tejero E et al. The effect of vitamin D derivatives on vascular calcification associated with inflammation. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27:2206–2212.
235. Wu-Wong JR, Nakane M, Ma J et al. Effects of Vitamin D analogs on gene expression profiling in human coronary artery smooth muscle cells. *Atherosclerosis*. 2006;186:20–28.
236. Bae S, Yalamarti B, Ke Q et al. Preventing progression of cardiac hypertrophy and development of heart failure by paricalcitol therapy in rats. *Cardiovasc Res*. 2011;91:632–639.
237. Bodyak N, Ayus JC, Achinger S et al. Activated vitamin D attenuates left ventricular abnormalities induced by dietary sodium in Dahl salt sensitive animals. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007;104:16810–16815.
238. Kong J, Kim GH, Wei M et al. Therapeutic effects of vitamin D analogs on cardiac hypertrophy in spontaneously hypertensive rats. *Am J Pathol*. 2010;177:622–631
239. Mizobuchi M, Nakamura H, Tokumoto M et al. Myocardial effects of VDR activators in renal failure. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2010;121:188–192.



240. Thadhani R, Appelbaum E, Pritchett Y et al. Vitamin D therapy and cardiac structure and function in patients with chronic kidney disease: the PRIMO randomized controlled trial. *JAMA*. 2012;307:674–684.

241. Gutierrez O, Isakova T, Rhee E, Shah A, Holmes J, Collierone G, Juppner H, Wolf M: Fibroblast growth factor-23 mitigates hyperphosphatemia but accentuates calcitriol deficiency in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16:2205–2215.

242. Larsson T, Nisbeth U, Ljunggren O, Juppner H, Jonsson KB: Circulating concentration of FGF-23 increases as renal function declines in patients with chronic kidney disease, but does not change in response to variation in phosphate intake in healthy volunteers. *Kidney Int*. 2003;64:2272–2279.

243. Shigematsu T, Kazama JJ, Yamashita T, Fukumoto S, Hosoya T, Gejyo F, Fukagawa M: Possible involvement of circulating fibroblast growth factor 23 in the development of secondary hyperparathyroidism associated with renal insufficiency. *Am J Kidney Dis*. 2004;44:250–256.

244. Pereira RC, Juppner H, Azucena-Serrano CE, Yadin O, Salusky IB, Wesseling-Perry K: Patterns of FGF-23, DMP1, and MEPE expression in patients with chronic kidney disease. *Bone*. 2009;45:1161–1168.

245. Wolf M. Forging forward with 10 burning questions on FGF23 in kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21:1427-35.

246. Fliser D, Kollerits B, Neyer U, Ankerst DP, Lhotta K, Lingenhel A, Ritz E, Kronenberg F, Kuen E, Konig P, Kraatz G, Mann JF, Muller GA, Kohler H, Riegler P: Fibroblast growth factor 23 (FGF23) predicts progression of chronic kidney disease: The Mild to Moderate Kidney Disease (MMKD) Study. *J Am Soc Nephrol*. 2007;18:2600–2608.

247. Gutierrez OM, Mannstadt M, Isakova T, Rauh-Hain JA, Tamez H, Shah A, Smith K, Lee H, Thadhani R, Juppner H, Wolf M: Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med*. 2008;359:584–592.

248. Jean G, Terrat JC, Vanel T, Hurot JM, Lorriaux C, Mayor B, Chazot C: High levels of serum fibroblast growth factor (FGF)-23 are associated with increased mortality in long haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2009;24:2792–2796.

249. Nakano C, Hamano T, Fujii N, Matsui I, Tomida K, Mikami S, Inoue K, Obi Y, Okada N, Tsubakihara Y, Isaka Y, Rakugi H. Combined use of vitamin D status and FGF23 for risk stratification of renal outcome. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7:810-819.

250. Kendrick J, Cheung AK, Kaufman JS, Greene T, Roberts WL, Smits G, Chonchol M; HOST (Homocysteinemia in Kidney and End Stage Renal Disease) Study Investigators. Associations of plasma 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D concentrations with death and progression to maintenance dialysis in patients with advanced kidney disease. *Am J Kidney Dis*. 2012;60:567-75.

251. Gutierrez OM, Januzzi JL, Isakova T, Laliberte K, Smith K, Collierone G, Sarwar A, Hoffmann U, Coglianese E, Christenson R, Wang TJ, deFilippi C, Wolf M: Fibroblast growth factor 23 and left ventricular hypertrophy in chronic kidney disease. *Circulation*. 2009;119:2545–2552.

252. Mirza MA, Larsson A, Lind L, Larsson TE. Circulating fibroblast growth factor-23 is associated with vascular dysfunction in the community. *Atherosclerosis*. 2009;205:385–390.

253. Mirza MA, Hansen T, Johansson L, Ahlstrom H, Larsson A, Lind L, Larsson TE: Relationship between circulating FGF23 and total body atherosclerosis in the community. *Nephrol Dial Transplant*. 2009;24:3125–3131.

254. McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Böhm M, et al. ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J*. 2012;33:1787–847.

255. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, Flachskampf FA, Foster E, Pellikka PA, Picard MH, Roman MJ, Seward J, Shanewise JS, Solomon SD, Spencer KT, Sutton MS, Stewart WJ. Chamber Quantification Writing Group; American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee; European Association of Echocardiography. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr*. 2005; 18: 1440-1463.

256. Holick M. Vitamin D and Sunlight: Strategies for Cancer Prevention and other Health Benefits. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008;3:1548–1554.

257. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney IntSuppl*. 2013;3:1-150.

258. K. D. I. G. O. K. C.-M. W. Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney IntSuppl*. 2009;S1-130.

259. Faul C, A. P. Amaral, B. Oskoue, M. C. Hu, A. Sloan et al. FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest*. 2011;121:4393-4408.

260. Mitchell DM, Henao MP, Finkelstein JS, Burnett-Bowie SA. Prevalence and predictors of vitamin D deficiency in healthy adults. *Endocr Pract.* 2012;18:914-923.
261. Larsson TE. The role of FGF-23 in CKD-MBD and cardiovascular disease: friend or foe?. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25:1376-1381.
262. Parker BD, Schurgers LJ, Brandenburg VM, Christenson RH, Vermeer C, Ketteler M, Shlipak MG, Whooley MA, Ix JH. The associations of fibroblast growth factor 23 and uncarboxylated matrix Gla protein with mortality in coronary artery disease: the Heart and Soul Study. *Ann Intern Med.* 2010;152:640-648.
263. Razzaque MS. Does FGF23 toxicity influence the outcome of chronic kidney disease?. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24:4-7.
264. Ärnlöv J, Carlsson AC, Sundström J, Ingelsson E, Larsson A, Lind L, Larsson TE. Higher fibroblast growth factor-23 increases the risk of all-cause and cardiovascular mortality in the community. *Kidney Int.* 2013;83:160-166.
265. Wright CB, Dong C, Stark M, Silverberg S, Rundek T, Elkind MS, Sacco RL, Mendez A, Wolf M. Plasma FGF23 and the risk of stroke: the Northern Manhattan Study (NOMAS). *Neurology.* 2014;82:1700-1706.
266. Jimbo R, Kawakami-Mori F, Mu S, Hirohama D, Majtan B, Shimizu Y, Yatomi Y, Fukumoto S, Fujita T, Shimosawa T. Fibroblast growth factor 23 accelerates phosphate-induced vascular calcification in the absence of Klotho deficiency. *Kidney Int.* 2014;85:1103-1111.
267. Kanbay M, Nicoleta M, Selcoki Y, Ikizek M, Aydin M, Eryonucu B, Duranay M, Akcay A, Armutcu F, Covic A. Fibroblast growth factor 23 and fetuin A are independent predictors for the coronary artery disease extent in mild chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010;5:1780-1786.

268. Anderson JL, Vanwoerkom RC, Horne BD, Bair TL, May HT, Lappé DL, Muhlestein JB. Parathyroid hormone, vitamin D, renal dysfunction, and cardiovascular disease: dependent or independent risk factors?. *Am Heart J*. 2011;162:331-339.

269. Grandi NC, Breitling LP, Hahmann H, Wüsten B, März W, Rothenbacher D, Brenner H. Serum parathyroid hormone and risk of adverse outcomes in patients with stable coronary heart disease. *Heart*. 2011;97:1215-1221.

270. Hagström E, Hellman P, Larsson TE, Ingelsson E, Berglund L, Sundström J, Melhus H, Held C, Lind L, Michaëlsson K, Arnlöv J. Plasma parathyroid hormone and the risk of cardiovascular mortality in the community. *Circulation*. 2009;119:2765-2771.

271. Taylor EN, Rimm EB, Stampfer MJ, Curhan GC. Plasma fibroblast growth factor 23, parathyroid hormone, phosphorus, and risk of coronary heart disease. *Am Heart J*. 2011;161:956-962.

272. Palmer SC, Hayen A, Macaskill P, Pellegrini F, Craig JC, Elder GJ, Strippoli GF. Serum levels of phosphorus, parathyroid hormone, and calcium and risks of death and cardiovascular disease in individuals with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2011;305:1119-1127.

273. Gibson CM, Dumaine RL, Gelfand EV, Murphy SA, Morrow DA, Wiviott SD, Giugliano RP, Cannon CP, Antman EM, Braunwald E. Association of glomerular filtration rate on presentation with subsequent mortality in non-ST-segment elevation acute coronary syndrome; observations in 13,307 patients in five TIMI trials. *Eur Heart J*. 2004;25:1998-2005.

274. Rodríguez M, López I, Muñoz J, Aguilera-Tejero E, Almaden Y. FGF23 and mineral metabolism, implications in CKD-MBD. *Nefrologia*. 2012;2:275-278.

275. Hu MC, Shi M, Zhang J, Quiñones H, Griffith C, Kuro-o M, Moe OW. Klotho deficiency causes vascular calcification in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2011;2:124-136.
276. Rodríguez-Ortiz ME, López I, Muñoz-Castañeda JR, Martínez-Moreno JM, Ramírez AP, Pineda C, Canalejo A, Jaeger P, Aguilera-Tejero E, Rodríguez M, Felsenfeld A, Almaden Y. Calcium deficiency reduces circulating levels of FGF23. *J Am Soc Nephrol*. 2012;23:1190-1197.
277. Ramos AM, Albalade M, Vázquez S, Caramelo C, Egido J, Ortiz A. Hyperphosphatemia and hyperparathyroidism in incident chronic kidney disease patients. *Kidney Int Suppl*. 2008;S88-93.
278. Imai A, Komatsu S, Ohara T, Kamata T, Yoshida J, Miyaji K, Shimizu Y, Takewa M, Hirayama A, Deshpande GA, Takahashi O, Kodama K. Serum cystatin C is associated with early stage coronary atherosclerotic plaque morphology on multidetector computed tomography. *Atherosclerosis*. 2011;218:350-355.
279. Ortiz A, Covic A, Fliser D, Fouque D, Goldsmith D, Kanbay M, Mallamaci F, Massy ZA, Rossignol P, Vanholder R, Wiecek A, Zoccali C, London GM. Epidemiology, contributors to, and clinical trials of mortality risk in chronic kidney failure. *Lancet*. 2014;383:1831-1843.
280. Rasouli M, Kiasari AM. Serum calcium and phosphorus associate with the occurrence and severity of angiographically documented coronary heart disease, possibly through correlation with atherogenic (apo)lipoproteins. *Clin Chem Lab Med*. 2006;44:43-50.

281. Onufrak SJ, Bellasi A, Shaw LJ, Herzog CA, Cardarelli F, Wilson PW, Vaccarino V, Raggi P. Phosphorus levels are associated with subclinical atherosclerosis in the general population. *Atherosclerosis*. 2008;199:424-431.
282. Saab G, Whooley MA, Schiller NB, Ix JH. Association of serum phosphorus with left ventricular mass in men and women with stable cardiovascular disease: data from the Heart and Soul Study. *Am J Kidney Dis*. 2010;56:496-505.
283. Olauson H, Lindberg K, Amin R, Sato T, Jia T, Goetz R, Mohammadi M, Andersson G, Lanske B, Larsson TE. Parathyroid-specific deletion of Klotho unravels a novel calcineurin-dependent FGF23 signaling pathway that regulates PTH secretion. *PLoS Genet*. 2013;9:e1003975.
284. Polymeris AD, Doumouchtsis KK, Giagourta I, Karga H. Effect of an oral glucose load on PTH, 25OHD3, calcium, and phosphorus homeostasis in postmenopausal women. *Endocr Res*. 2011;36:45-52.
285. Bover J, Ureña P, Brandenburg V, Goldsmith D, Ruiz C, DaSilva I, Bosch RJ. Adynamic bone disease: from bone to vessels in chronic kidney disease. *Semin Nephrol*. 2014;34:626-640.
286. Wang L, Song Y, Manson JE, Pilz S, März W, et al. Circulating 25-hydroxy-vitamin d and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis of prospective studies. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes*. 2012;5: 819-829.
287. Brøndum-Jacobsen P, Benn M, Jensen GB, Nordestgaard BG. 25-hydroxyvitamin d levels and risk of ischemic heart disease, myocardial infarction, and early death: population-based study and meta-analyses of 18 and 17 studies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2012;32:2794-2802.

288. Syal SK, Kapoor A, Bhatia E, Sinha A, Kumar S, et al. Vitamin D deficiency, coronary artery disease, and endothelial dysfunction: observations from a coronary angiographic study in Indian patients. *J Invasive Cardiol.* 2012;24: 385-389.
289. Chen WR, Qian YA, Chen YD, Shi Y, Yin DW, et al. The Effects of Low Vitamin D on Coronary Artery Disease. *Heart Lung Circ.* 2014;23:314-319.
290. Scragg R, Jackson R, Holdaway IM, Lim T, Beaglehole R. Myocardial infarction is inversely associated with plasma 25-hydroxyvitamin D3 levels: a community-based study. *Int J Epidemiol.* 1990;19:559-563.
291. Karakas M, Thorand B, Zierer A, Huth C, Meisinger C, et al. Low Levels of Serum 25-Hydroxyvitamin D Are Associated with Increased Risk of Myocardial Infarction, Especially in Women: Results from the MONICA/KORA Augsburg Case-Cohort Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98:272-280.
292. Lavie CJ, Lee JH, Milani RV. Vitamin D and cardiovascular disease will it live up to its hype? *J Am Coll Cardiol.* 2011;58:1547-1556.
293. De Borst MH, Vervloet MG, ter Wee PM, Navis G. Cross talk between the renin-angiotensin-aldosterone system and vitamin D-FGF-23-klotho in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22: 1603-1609.
294. Siasos G, Tousoulis D, Oikonomou E, Maniatis K, Kioufis S, et al. Vitamin D serum levels are associated with cardiovascular outcome in coronary artery disease. *Int J Cardiol.* 2013;168: 4445-4447.
295. Bittner V, Wenger NK, Waters DD, DeMicco DA, Messig M, et al. Vitamin D levels do not predict cardiovascular events in statin-treated patients with stable coronary disease. *Am Heart J.* 2012;164:387-393.



296. Emberson J, Bennett D, Link E, Parish S, Danesh J, et al. C-reactive protein concentration and the vascular benefits of statin therapy: an analysis of 20,536 patients in the Heart Protection Study. *Lancet*. 2011;377: 469-476.
297. Shimada T, Kakitani M, Yamazaki Y, Hasegawa H, Takeuchi Y, et al. Targeted ablation of FGF-23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. *J Clin Invest*. 2004;113: 561-568.
298. Gutiérrez OM, Mannstadt M, Isakova T, Rauh-Hain JA, Tamez H, et al. Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *N Eng J Med*. 2008;359: 584-592.
299. Masai H, Joki N, Sugi K, Moroi M. A preliminary study of the potential role of FGF-23 in coronary calcification in patients with suspected coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2013;226:228-233.
300. Scialla JJ, Ling Lau W, Reilly MP, Isakova T, Yang HY, et al. Fibroblast growth factor 23 is not associated with and does not induce arterial calcification. *Kidney Int*. 2013;83:1159-1168.
301. Hsia J, Heiss G, Ren H, Allison M, Dolan NC, et al. Calcium/vitamin D supplementation and cardiovascular events. *Circulation*. 2007;115:846-854.
302. Elamin MB, Abu Elnour NO, Elamin KB, Fatourehchi MM, Alkatib AA, et al. Vitamin D and cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:1931-1942.
303. Tang WJ, Wang LF, Xu XY, Zhou Y, Jin WF, et al. Autocrine/paracrine action of vitamin D on FGF23 expression in cultured rat osteoblasts. *Calcif Tissue Int*. 2010;86: 404-410.

304. Saleh FN, Schirmer H, Sundsfjord J, Jorde R. Parathyroid hormone and left ventricular hypertrophy. *Eur Heart J*. 2003;24:2054–2060.
305. Agarwal I, Ide N, Ix JH, et al. Fibroblast growth factor-23 and cardiac structure and function. *J Am Heart Assoc*. 2014;13:e000584.
306. van Ballegooijen AJ, Visser M, Cotch MF et al. Serum vitamin D and parathyroid hormone in relation to cardiac structure and function: the ICELAND-MI substudy of AGES-Reykjavik. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;8:2544-2552.
307. Tomaschitz A, Pilz S, Ritz E, et al. Independent association between 1,25-dihydroxyvitamin D, 25-hydroxyvitamin D and the renin-angiotensin system: the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) study. *Clin Chim Acta*. 2010;411:1354-1360.
308. Ameri P, Canepa M, Milaneschi Y, et al. Relationship between vitamin D status and left ventricular geometry in a healthy population: results from the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *J Intern Med*. 2013;273:253–262.
309. van Ballegooijen AJ, Snijder MB, Visser M et al. Vitamin D in relation to myocardial structure and function after eight years of follow-up: the Hoorn study. *Ann Nutr Metab*. 2012;60:69–77.
310. Agarwal G, Nanda G, Kapoor A, et al. Cardiovascular dysfunction in symptomatic primary hyperparathyroidism and its reversal after curative parathyroidectomy: results of a prospective case control study. *Surgery*. 2013;154:1394-1403.
311. Tastan I, Schreckenber R, Mufti S, Abdallah Y, Piper HM, Schluter KD. Parathyroid hormone improves contractile performance of adult rat ventricular

cardiomyocytes at low concentrations in a non-acute way. *Cardiovasc Res.* 2009;82:77–83.

312. Kestenbaum B, Katz R, de Boer I, et al. Vitamin D, parathyroid hormone, and cardiovascular events among older adults. *J Am Coll Cardiol.* 2011;58:1433–1441.

313. Hagström E, Ingelsson E, Sundström J et al. Plasma parathyroid hormone and risk of congestive heart failure in the community. *Eur J Heart Fail.* 2010;12:1186–1192.

314. Levin A, Bakris GL, Molitch M, et al. Prevalence of abnormal serum vitamin D, PTH, calcium, and phosphorus in patients with chronic kidney disease: results of the study to evaluate early kidney disease. *Kidney Int.* 2007;71:31–38.

315. van Ballegooijen AJ, Visser M, Kestenbaum B, et al. Relation of vitamin D and parathyroid hormone to cardiac biomarkers and to left ventricular mass (from the Cardiovascular Health Study). *Am J Cardiol.* 2013;111:418–424.

316. Ketteler M, Wolf M, Hahn K, Ritz E. Phosphate: a novel cardiovascular risk factor. *Eur Heart J.* 2013;34:1099–1101.

## **ANEXO**

### **PUBLICACIONES A LAS QUE HA DADO LUGAR ESTA TESIS**

# Important abnormalities of bone mineral metabolism are present in patients with coronary artery disease with a mild decrease of the estimated glomerular filtration rate

Emilio González-Parra<sup>1</sup> · Álvaro Aceña<sup>2</sup> · Óscar Lorenzo<sup>3</sup> · Nieves Tarín<sup>4</sup> ·  
María Luisa González-Casaus<sup>5</sup> · Carmen Cristóbal<sup>6</sup> · Ana Huelmos<sup>7</sup> ·  
Ignacio Mahillo-Fernández<sup>8</sup> · Ana María Pello<sup>2</sup> · Rocío Carda<sup>2</sup> ·  
Ignacio Hernández-González<sup>2</sup> · Joaquín Alonso<sup>6</sup> · Fernando Rodríguez-Artalejo<sup>9</sup> ·  
Lorenzo López-Bescós<sup>10</sup> · Alberto Ortiz<sup>1</sup> · Jesús Egido<sup>1,11</sup> · José Tuñón<sup>12</sup>

Received: 6 January 2015 / Accepted: 16 July 2015

© The Japanese Society for Bone and Mineral Research and Springer Japan 2015

**Abstract** Chronic kidney disease (CKD)–mineral and bone disorder (MBD) is characterized by increased circulating levels of parathormone (PTH) and fibroblast growth factor 23 (FGF23), bone disease, and vascular calcification, and is associated with adverse outcomes. We studied the prevalence of mineral metabolism disorders, and the potential relationship between decreased estimated glomerular filtration rate (eGFR) and CKD-MBD in coronary artery disease patients in a cross-sectional study of 704 outpatients 7.5 ± 3.0 months after an acute coronary syndrome. The mean eGFR (CKD Epidemiology Collaboration formula) was 75.8 ± 19.1 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. Our patients showed lower calcidiol plasma levels than a healthy cohort from the same geographical area. In the case of men, this finding was present despite similar creatinine levels in both groups and older age of the healthy subjects. Most patients (75.6 %) had an eGFR below 90 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> (eGFR

categories G2–G5), with 55.3 % of patients exhibiting values of 60–89 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> (G2). PTH ( $r = -0.3329$ ,  $p < 0.0001$ ) and FGF23 ( $r = -0.3641$ ,  $p < 0.0001$ ) levels inversely correlated with eGFR, whereas calcidiol levels and serum phosphate levels did not. Overall, PTH levels were above normal in 34.9 % of patients. This proportion increased from 19.4 % in G1 category patients, to 33.7 % in G2 category patients and 56.6 % in G3–G5 category patients ( $p < 0.001$ ). In multivariate analysis, eGFR and calcidiol levels were the main independent determinants of serum PTH. The mean FGF23 levels were 69.9 (54.6–96.2) relative units (RU)/ml, and 33.2 % of patients had FGF23 levels above 85.5 RU/ml (18.4 % in G1 category patients, 30.0 % in G2 category patients, and 59.2 % in G3–G5 category patients;  $p < 0.001$ ). In multivariate analysis, eGFR was the main predictor of FGF23 levels. Increased phosphate levels were present in 0.7 % of the whole sample: 0 % in G1 category patients, 0.3 % in G2 category patients, and 2.8 % in G3–G5 category patients ( $p = 0.011$ ). Almost 90 % of

E. González-Parra and Á. Aceña contributed equally to this work.

✉ José Tuñón  
jtunon@secardiologia.es

<sup>1</sup> Division of Nephrology and Hypertension, IIS-Fundación Jiménez Díaz and Autónoma University, Madrid, Spain

<sup>2</sup> Department of Cardiology, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain

<sup>3</sup> Renal and Vascular Research Laboratory, IIS-Fundación Jiménez Díaz and Autónoma University, Madrid, Spain

<sup>4</sup> Department of Cardiology, Hospital Universitario de Móstoles, Madrid, Spain

<sup>5</sup> Laboratory of Nephrology and Mineral Metabolism, Hospital Gómez-Ulla, Madrid, Spain

<sup>6</sup> Department of Cardiology, Hospital de Fuenlabrada and Rey Juan Carlos University, Fuenlabrada, Spain

<sup>7</sup> Department of Cardiology, Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Madrid, Spain

<sup>8</sup> Department of Epidemiology, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain

<sup>9</sup> Department of Preventive Medicine and Public Health, School of Medicine, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, Spain

<sup>10</sup> Rey Juan Carlos University, Alcorcón, Spain

<sup>11</sup> Renal, Vascular and Diabetes Research Laboratory, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Autónoma University, and CIBERDEM, Madrid, Spain

<sup>12</sup> Department of Cardiology and Laboratory of Vascular Pathology, IIS-Fundación Jiménez Díaz and Autónoma University, 28040 Madrid, Spain

patients had calcidiol insufficiency without significant differences among the different degrees of eGFR. In conclusion, in patients with coronary artery disease there is a large prevalence of increased FGF23 and PTH levels. These findings have an independent relationship with decreased eGFR, and are evident at an eGFR of 60–89 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. Then, mild decreases in eGFR must be taken in consideration by the clinician because they are associated with progressive abnormalities of mineral metabolism.

**Keywords** Glomerular filtration rate · Fibroblast growth factor 23 · Parathormone · Vitamin D · Coronary artery disease

## Introduction

The KDIGO 2012 Clinical Practice Guidelines for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease define chronic kidney disease (CKD) as the presence for more than 3 months of abnormalities of kidney structure or function, with implications for health [1]. CKD is classified on the basis of cause, glomerular filtration rate (GFR) category, and albuminuria category (CGA classification). Six GFR categories are recognized: G1 (normal or high, 90 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> or greater), G2 (mildly decreased, 60–89 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>), G3a (mildly to moderately decreased, 45–59 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>), G3b (moderately to severely decreased, 30–44 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>), G4 (severely decreased, 15–29 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>), and G5 (kidney failure, less than 15 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>). CKD is defined as either an estimated GFR (eGFR) of less than 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> or evidence of kidney injury such as a urinary albumin/creatinine ratio (UACR) greater than 30 mg/g [1]. The basis of this classification is the increased relative risk of adverse outcomes associated with either an eGFR of less than 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> or a UACR greater than 30 mg/g [1]. These adverse outcomes include all-cause and cardiovascular death, progressive CKD, and acute kidney injury. Although renal outcomes are clearly associated with these two cut-off points (eGFR less than 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> or UACR greater than 30 mg/g), an increased risk of all-cause and cardiovascular death is observed in patients with reduced eGFR (eGFR category G2, 60–89 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>) even when the UACR is below 30 mg/g [1]. The KDIGO 2012 guidelines recommend reporting eGFR in adults obtained with the 2009 CKD Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) creatinine equation [1], because it provides an accurate estimate of eGFR in all GFR categories [1, 2]. In patients with heart failure, the CKD-EPI equations were superior to the older Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) equation for predicting mortality, especially in patients with GFR greater than 60 ml/min [3]. In this regard, the MDRD equation was generated from CKD

patients participating in a clinical trial and is not accurate for patients with GFR greater than 60 ml/min. In the past decade many countries followed the recommendation that whenever serum creatinine is measured, MDRD-derived eGFR is reported simply as greater than 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> when it is above this value, providing only the specific result when it is less than 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> [4]. Together with the lack of routine UACR assessment, reporting eGFR as greater than 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> on the basis of the MDRD equation may lead to underdiagnosis of CKD by many non-nephrologists. This may deprive patients of early diagnosis and management of CKD complications, such as mineral and bone disorders (MBD). CKD-MBD is an early and progressive complication of CKD associated with accelerated vascular calcification, left ventricular hypertrophy, and increased cardiovascular morbidity and mortality [5, 6]. The earliest manifestation of CKD-MBD is associated with disruption of phosphate homeostasis, vascular calcification, and accelerated aging [7–9].

The novelty of the work reported here is that we have studied the status of the components of mineral metabolism in patients with stable coronary artery disease from the Biomarkers in Acute Coronary Syndrome and Biomarkers in Acute Myocardial Infarction studies [10] by assessing eGFR by the CKD-EPI equation, according to the most recent CKD guidelines [1]. We divided the population into three groups according to the GFR (less than 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>, 60–89 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>, and 90 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> or greater) showing that mild decreases in GFR have an impact on CKD-MBD parameters. This suggests that all patients with coronary artery disease should be screened for CKD with use of the CKD-EPI equation to detect those with an eGFR of 60–89 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>.

## Materials and methods

### Study design

The research protocol was approved by the ethics committees of the hospitals, and all patients signed informed consent documents. The Biomarkers in Acute Coronary Syndrome and Biomarkers in Acute Myocardial Infarction studies enrolled patients admitted to four hospitals in the area of Madrid (Spain) with either non-ST-elevation acute coronary syndrome or ST-elevation acute myocardial infarction [10]. Non-ST-elevation acute coronary syndrome was defined as rest anginal pain lasting more than 20 min in the previous 24 h, or new-onset class III–IV angina, along with transient ST depression or T wave inversion in the electrocardiogram considered diagnostic by the attending cardiologist and/or troponin level elevation. ST-elevation myocardial infarction was defined as symptoms

compatible with angina lasting more than 20 min and ST elevation in two adjacent leads in the electrocardiogram without response to nitroglycerin, and troponin level elevation. Exclusion criteria were age greater than 85 years, coexistence of other significant cardiac disorders except left ventricular hypertrophy secondary to hypertension, coexistence of any illness or toxic habits that could limit patient survival, impossibility to perform revascularization when indicated, and subjects in whom follow-up was not possible. To avoid variability of findings due to an excessive heterogeneity in the intervals between the acute event and blood sampling, patients not clinically stable at day 6 of the index event were excluded.

Between July 2006 and April 2010, 1898 patients were discharged from the study hospitals with a diagnosis of non-ST-elevation acute coronary syndrome or ST-elevation acute myocardial infarction. Eight hundred thirty-eight patients were enrolled in the study. The remaining patients were not enrolled because of age greater than 85 years (17.3 %), presence of disorders or toxic habits limiting survival (29.0 %), impossibility to perform cardiac revascularization (14.5 %), coexistence of other significant cardiopathy (6.8 %), impossibility to perform follow-up (12.0 %), clinical instability beyond day 6 of the index event (9.1 %), refusal to participate in the study (2.0 %), and impossibility for the investigators to enroll them (9.3 %). Of the 838 patients enrolled, seven died after discharge and 709 returned for an outpatient visit and blood sampling between January 2007 and February 2011 (between 6 and 12 months after discharge). Five patients were lost to follow-up, leaving a total of 704 patients for analysis.

### Biochemical studies

At the outpatient visit, a complete set of clinical variables were recorded and 12-h fasting venous blood samples were collected in EDTA, centrifuged at 2500g for 10 min, and plasma stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  in the Biobank of IIS-Fundación Jiménez Díaz until assessment of 25-hydroxyvitamin D (calcidiol), fibroblast growth factor 23 (FGF23), and intact parathormone (PTH) in the Laboratory of Nephrology and Mineral Metabolism at Gómez-Ulla Hospital. The remaining analytes were assessed in the Vascular Pathology Laboratory and the Biochemistry Laboratory at Fundación Jiménez Díaz. The investigators who performed the laboratory studies were blinded to the clinical data. Plasma calcidiol levels were quantified by a chemiluminescent immunoassay with a LIAISON<sup>®</sup> XL analyzer (LIAISON calcidiol total assay, marketed as 25OH vitamin D total assay, DiaSorin, Saluggia, Italy), FGF23 was measured by an enzyme-linked immunosorbent assay which recognizes epitopes within the carboxyl-terminal portion of FGF23 (human FGF23, C-terminal; Immutopics, San Clemente,

CA, USA), intact PTH was analyzed by a second-generation automated chemiluminescence method (Elecsys 2010 platform, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), phosphate was determined by an enzymatic method (Integra 400 analyzer, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), and high-sensitivity C-reactive protein (hsCRP) was assessed by latex-enhanced immunoturbidimetry (ADVIA 2400 chemistry system, Siemens, Germany). Kidney function was estimated by the CKD-EPI eGFR equation [11].

### Statistical analysis

Quantitative data that followed a normal distribution (Kolmogorov–Smirnov test) are presented as the mean  $\pm$  standard deviation, and those not normally distributed are displayed as the median (interquartile range). Qualitative variables are displayed as percentages. Calcidiol levels were assessed as four clinically relevant categories: 10.0 ng/ml or less (severe deficiency), 10.01–20.00 ng/ml (moderate deficiency), 20.01–30.0 ng/ml (insufficiency/suboptimal levels), and more than 30 ng/ml (sufficiency). To assess correlations, some values were log-transformed, and Pearson's  $r$  was obtained. Multivariate linear regression models were used to identify factors independently associated with serum PTH or FGF23. Models were built with forward stepwise procedures to maximize  $r^2$  with the smallest number of predictor variables. Clearly asymmetric variables were log-transformed. Results are expressed as coefficients and the 95 % confidence interval,  $p$  values, and the adjusted  $r^2$  value. The statistical significance of variables in the models was assessed by ANOVA for variables with a normal distribution and Kruskal–Wallis tests for variables not normally distributed. Analyses were performed with SPSS 19.0 (SPSS, New York, NY, USA) and Instat 3.10 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA).

### Results

Renal function and CKD-MBD parameters were assessed in 704 outpatients  $7.5 \pm 3.0$  months after a non-ST-elevation acute coronary syndrome or an ST-elevation acute myocardial infarction. Table 1 shows epidemiological and analytical parameters for the whole cohort and for different KDIGO 2012 eGFR categories (G1, G2, and G3–G5). The mean eGFR estimated by the CKD-EPI formula was  $75.8 \pm 19.1$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. Most patients (75.5 %) had a low eGFR (GFR categories G2–G5, less than 90 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>). More than 50 % of patients had an eGFR of 60–89 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> (G2). In the absence of albuminuria data, G2 patients are not considered as having CKD [1]. Compared with patients with a normal eGFR (G1), patients with a decreased eGFR were older, less frequently male,

and had higher hsPCR values, suggesting systemic inflammation (Table 1). Patients with a decreased eGFR also had greater prevalence of cerebrovascular events, peripheral artery disease, atrial fibrillation, and reduced ejection fraction.

Only four patients (0.6 %) were taking vitamin D supplements and none were taking cinacalcet or phosphate binders. Thus, the cohort can be considered to reflect natural history CKD-MBD parameters in coronary artery disease patients. Overall, calcidiol, PTH, FGF23, and serum phosphate levels differed between the three eGFR groups (G1, G2, and G3–G5, Table 1).

However, only PTH and FGF23 levels progressively changed according to progressively lower eGFR (Fig. 1). This is in accordance with our current understanding of CKD-MBD. Thus, although there are CKD-associated factors (e.g., proteinuria with loss of protein-bound vitamin D) that may impact on calcidiol levels, the main risk factors for low calcidiol levels (low sun exposure and low vitamin D intake) are not CKD specific [12]. In this regard, the mean calcidiol level was  $19.61 \pm 8.23$  ng/ml, and 89.6 % of patients in all eGFR categories had calcidiol insufficiency or deficiency (less than 30 ng/ml; Table 1), and there was no correlation between calcidiol levels and eGFR (Table 2). Serum phosphate levels did not correlate with eGFR either (Table 2). In this regard, the vast majority of patients had normal serum phosphate levels, and only five (0.7 %) had a serum phosphate level greater than 4.5 mg/dl. This is not surprising because, given the toxicity of excess phosphate [13, 14], compensatory mechanisms such as increased serum FGF23 and PTH levels are activated very early in the course of CKD and hyperphosphatemia is typically not observed until eGFR categories G4 and mainly G5 [2, 15]. Thus, the main CKD-MBD-associated changes in the present coronary artery disease cohort were observed for PTH and FGF23.

The median serum PTH level was 59.7 (45.5–77.3) pg/ml and progressively increased as the eGFR decreased as assessed by eGFR category (Table 1, Fig. 1) or as a continuous variable ( $r = -0.3329$ ,  $p < 0.0001$ ; Table 2, Fig. 2). Overall, 35 % of the study patients displayed above-normal PTH levels (more than 74 pg/ml according to the normal range for the laboratory). Among patients with normal renal function (eGFR category G1), 19.4 % had high PTH levels. In eGFR category G1, low calcidiol levels are inversely correlated with drivers of high PTH levels (Table 2;  $r = -0.300$ ,  $p < 0.0001$ ), although eGFR was also a contributor ( $r = -0.164$ ,  $p = 0.0326$ ). We should remember that the original definition of normal calcidiol levels was based on their association with normal PTH levels [16]. In this regard, calcidiol levels also inversely correlate with serum PTH levels in all individual eGFR categories (Table 2). Furthermore, in multivariate analysis, eGFR and calcidiol levels

were the main independent determinants of serum PTH levels. Serum phosphate (negative correlation), hsCRP (negative correlation), and FGF23 (positive correlation) were also independently correlated with PTH (Table 3).

The median serum FGF23 level was 69.9 (54.6–96.2) relative units (RU)/ml, and 33.2 % of patients had an FGF23 level greater than 85.5 RU/ml, which is considered to confer a higher risk of CKD progression [17]. In eGFR category G1, 18.4 % of patients have FGF23 values above this limit. The driver of these early changes was unclear, and could be related to variables not assessed in the present study, such as dietary phosphate and low kidney klotho levels [8, 9, 18–20]. Both within eGFR categories G2 and G3–G5 and for the overall cohort, a clear inverse correlation of FGF23 levels with eGFR was observed. In multivariate analysis (Table 4), eGFR was the main predictor of FGF23 levels. Additional independent predictors were sex, phosphate, hsCRP, and PTH. Contrary to the findings for PTH, phosphate and hsCRP were directly correlated to FGF23 levels. Table 5 shows the distribution of eGFR and mineral metabolism parameters across the different age ranges.

The PTH/phosphate and FGF23/phosphate ratios increased as the eGFR category worsened (Table 1), reflecting the need for higher concentrations of phosphaturic hormones to maintain normal phosphate levels as glomerular phosphate filtration decreases and progressive resistance to their kidney effects develops [19].

Finally, we compared our data on calcidiol plasma levels with those of a healthy cohort of 657 men and 1154 women recently reported by Olmos et al. [21]. In men, as expected, calcidiol values were lower in our study than in the healthy cohort ( $20.2 \pm 8.4$  ng/ml vs.  $23.5 \pm 7.7$  ng/ml;  $p < 0.001$ ). This was so in the absence of significant differences in creatinine plasma levels ( $1.09 \pm 0.33$  mg/dl vs.  $1.08 \pm 0.2$  mg/dl;  $p = 0.503$ ). Even more, our patients were younger than those of the healthy cohort ( $59.8 \pm 11.7$  years vs.  $64.6 \pm 8.4$  years;  $p < 0.001$ ). Our female patients also had lower calcidiol levels ( $17.9 \pm 7.3$  mg/dl vs.  $22.1 \pm 7.9$  mg/dl;  $p < 0.001$ ). However, opposite to what we observed in men, age ( $66.4 \pm 12.7$  years vs.  $63.2 \pm 9.8$  years;  $p < 0.001$ ) and plasma creatinine levels were higher than those of healthy individuals ( $0.94 \pm 0.36$  mg/dl vs.  $0.90 \pm 0.20$  mg/dl;  $p = 0.002$ ).

## Discussion

The main findings of this study are that most patients with coronary artery disease have a decrease in calcidiol plasma levels, which is more prevalent than in healthy individuals from the same geographical area. Of special interest, in the subgroup of men this finding was present despite similar creatinine plasma levels in both populations. In addition,



**Table 1** Key patient characteristics according to estimated glomerular filtration rate (eGFR) category (ml/min/1.73 m<sup>2</sup>) assessed by the Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) formula and following the KDIGO 2012 eGFR category definition [1]

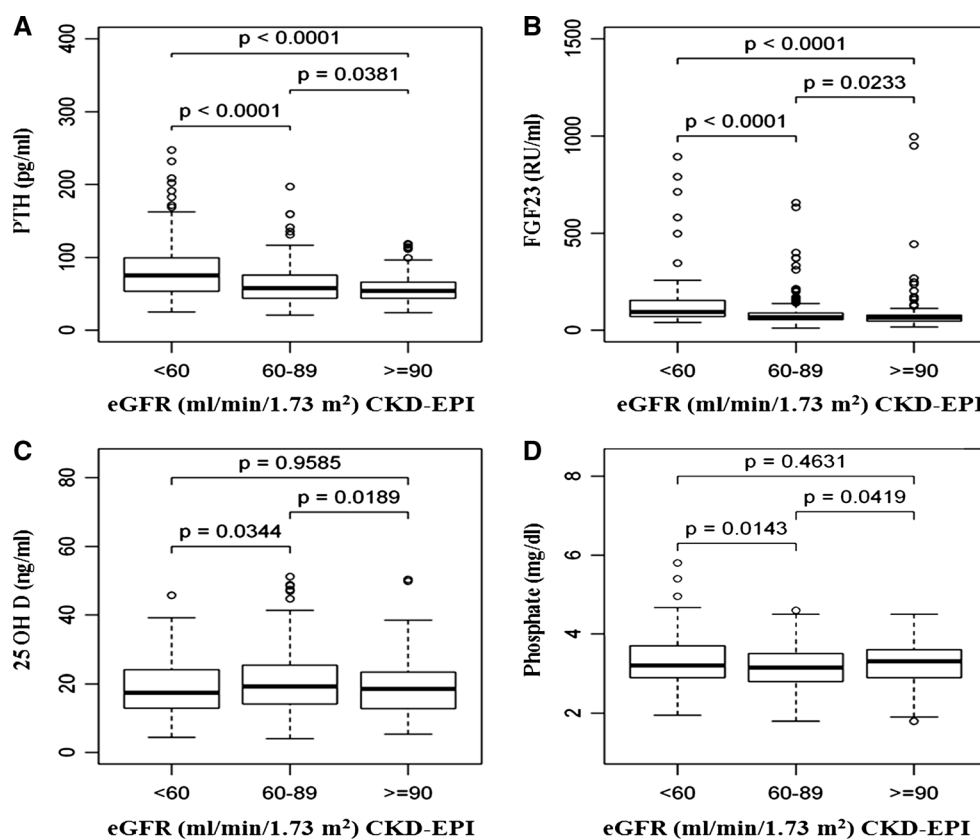
	All <i>n</i> = 704 (100 %)	Category G1 eGFR ≥ 90 ( <i>n</i> = 172) (24.4 %)	Category G2 eGFR 60–89 ( <i>n</i> = 389) (55.3 %)	Category G3–G5 eGFR < 60 ( <i>n</i> = 143) (20.3 %)	<i>p</i> <sup>a</sup>
Age (years)	61.4 ± 12.3	51.4 ± 8.6	61.9 ± 11.1	72.1 ± 9.2	<0.001
Male sex (%)	75.3	83.7	77.9	58.0	<0.001
Caucasian (%)	97.0	94.2	97.4	99.3	0.023
Present smoker (%)	6.5	10.5	5.1	5.6	0.055
Diabetes (%)	24.6	23.3	22.9	30.8	0.155
Hypertension (%)	65.1	48.3	65.8	83.2	<0.001
Dyslipidemia (%)	59.1	58.1	58.6	61.5	0.796
Body mass index (kg/m <sup>2</sup> )	28.41 (25.71–30.91)	28.5 ± 4.5	29.0 ± 4.6	28.1 ± 4.2	0.111
Cerebrovascular events (%)	3.4	1.2	2.1	9.8	<0.001
Peripheral artery disease (%)	3.8	2.9	2.8	7.7	0.027
Atrial fibrillation (%)	4.8	1.2	4.1	11.2	<0.001
Ejection fraction < 40 (%)	11.8	9.3	10.0	19.6	0.005
Last coronary event					
STEMI/NSTEACS (%)	38.6/61.4	38.4/61.6	38.8/61.2	38.5/61.5	0.994
Analytic parameters					
eGFR (CKD-EPI) (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	75.8 ± 19.1	98.9 ± 6.2	76.1 ± 8.2	47.3 ± 10.6	<0.001
Glycemia (mg/dl)	100 (91.0–115.0)	110.3 ± 41.7	107.7 ± 30.8	111.7 ± 44.3	0.525
HDL cholesterol (mg/dl)	42 (36.0–49.0)	42.6 ± 10.4	44.3 ± 10.8	44.1 ± 11.7	0.213
LDL cholesterol (mg/dl)	81.0 (66.0–96.0)	85.7 ± 28.5	82.7 ± 23.7	81.3 ± 27.0	0.335
Triglycerides (mg/dl)	111 (82.0–153.0)	112.5 (82.8–151.3)	106 (80.0–149.5)	119 (86.0–169.5)	0.138
HS C-reactive protein (mg/L)	1.96 (0.83–4.12)	1.91 (0.88–3.67)	1.72 (0.78–3.71)	2.91 (1.20–6.13)	<0.001
Calcidiol (ng/ml)	19.6 ± 8.2	18.7 ± 7.5	20.4 ± 8.6	18.6 ± 8.0	0.023
Calcidiol range (%)					0.055
≤10 ng/ml	10.9	10.6	10.1	13.3	
10.01–20.0 ng/ml	46.4	51.2	44.0	46.9	
20.01–30.0 ng/ml	32.3	33.5	32.1	31.5	
>30.0 ng/ml	10.4	4.7	13.7	8.4	
PTH (pg/ml)	59.7 (45.5–77.3)	54.2 (44.1–65.9)	58.0 (43.9–75.9)	75.2 (53.5–99.4)	<0.001
PTH >74 pg/ml (%)	34.9	19.4	33.7	56.6	<0.001
FGF23 (RU/ml)	69.9 (54.6–96.2)	65.7 (48.4–78.9)	68.1 (53.9–89.1)	98.5 (72.5–159.0)	<0.001
FGF23 > 85.5 RU/ml (%)	33.2	18.4	30.0	59.2	<0.001
Phosphate (mg/dl)	3.21 ± 0.54	3.25 ± 0.54	3.15 ± 0.51	3.30 ± 0.63	0.018
Phosphate > 4.5 mg/dl (%)	0.7	0	0.3	2.8	0.011
PTH/phosphate ratio	18.6 (13.8–25.2)	16.6 (12.5–21.9)	18.6 (13.7–24.6)	22.8 (16.0–32.4)	<0.001
FGF 23/phosphate ratio	22.5 (17.5–31.8)	19.6 (15.6–26.0)	22.1 (17.4–29.5)	32.7 (22.5–48.1)	<0.001
Calcidiol/phosphate ratio	5.88 (4.31–7.82)	5.74 (4.3–7.2)	6.03 (4.57–8.16)	5.68 (3.53–7.65)	0.011

Categorical variables are presented as percentages, quantitative variables with a normal distribution are presented as the mean ± standard deviation, and those not normally distributed are presented as the median (with the interquartile range in *parentheses*).

*FGF23* fibroblast growth factor 23, *HDL* high-density lipoprotein, *HS* high sensitivity, *LDL* low-density lipoprotein, *NSTEACS* non-ST-elevation acute coronary syndrome, *PTH* parathormone, *RU* relative units, *STEMI* ST-elevation myocardial infarction

<sup>a</sup> Refers to the comparison among G1, G2, and G3–G5 groups

**Fig. 1** Chronic kidney disease mineral and bone disorder parameters in different estimated glomerular filtration rate (eGFR) categories (G1, normal renal function, eGFR greater than 90 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>; G2, mildly decreased eGFR of 60–89 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>; and G3–G5, eGFR less than 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>). **a** Serum parathormone (PTH), **b** serum fibroblast growth factor 23 (FGF23), **c** serum calcidiol (25 OHD), **d** serum phosphate. CKD-EPI Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration



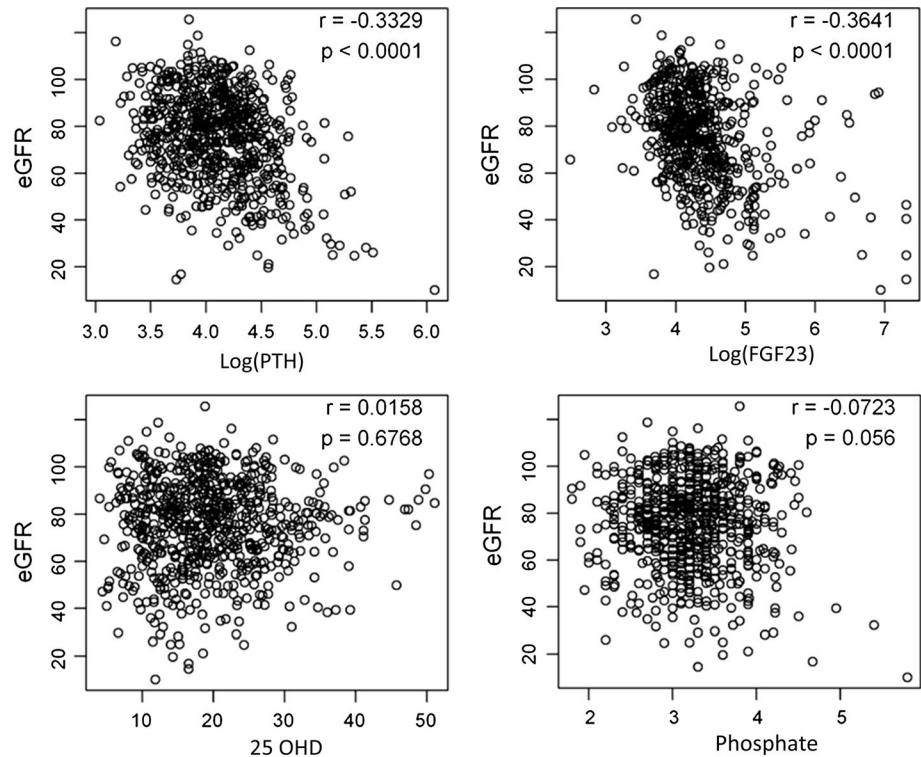
**Table 2** Univariate correlations between individual chronic kidney disease mineral and bone disorder parameters according to estimated glomerular filtration rate (eGFR) category assessed by the Chronic

Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) formula and following the KDIGO eGFR category definition [1]

	PTH	Phosphate	Calcidiol	FGF23
<b>G1 eGFR <math>\geq 90</math> ml/min/1.73 m<sup>2</sup></b>				
PTH	–	–0.112 (NS)	–0.300 ( $p < 0.0001$ )	–0.034 (NS)
FGF23	–0.034 (NS)	0.1041 (NS)	–0.1583 (NS)	–
CKD-EPI eGFR	–0.164 ( $p = 0.0326$ )	–0.0205 (NS)	–0.015 (NS)	–0.0373 (NS)
<b>G2 eGFR 60–89 ml/min/1.73 m<sup>2</sup></b>				
PTH	–	–0.097 (NS)	–0.3325 ( $p < 0.0001$ )	0.1449 ( $p = 0.0085$ )
FGF23	0.1449 ( $p = 0.0085$ )	0.1316 ( $p = 0.0171$ )	–0.1243 ( $p = 0.0241$ )	–
CKD-EPI eGFR	–0.0833 (NS)	–0.0458 (NS)	–0.0146 (NS)	–0.1808 ( $p = 0.0009$ )
<b>G3–G5 eGFR <math>&lt; 60</math> ml/min/1.73 m<sup>2</sup></b>				
PTH	–	–0.202 (NS)	–0.318 ( $p = 0.001$ )	0.270 ( $p = 0.006$ )
FGF23	0.270 ( $p = 0.006$ )	0.205 (NS)	–0.024 (NS)	–
CKD-EPI eGFR	–0.559 ( $p = 0.000$ )	0.052 (NS)	–0.090 (NS)	–0.342 ( $p = 0.000$ )
<b>All</b>				
PTH	–	–0.0918 ( $p = 0.0252$ )	–0.3229 ( $p < 0.0001$ )	0.2012 ( $p < 0.0001$ )
FGF23	0.2012 ( $p < 0.0001$ )	0.1173 ( $p = 0.0042$ )	–0.1369 ( $p = 0.0008$ )	–
CKD-EPI eGFR	–0.2874 ( $p < 0.0001$ )	–0.0154 (NS)	0.0097 (NS)	–0.3425 ( $p < 0.0001$ )

FGF23 fibroblast growth factor 23, NS nonsignificant difference, PTH parathormone

**Fig. 2** Correlation between parathormone (*PTH*), fibroblast growth factor 23 (*FGF23*), calcidiol (*25 OHD*), or serum phosphate level and estimated glomerular filtration rate (*eGFR*)



**Table 3** Multivariate analysis of predictors of parathormone levels

	<i>r</i>	95 % CI		<i>p</i>
		Low	High	
Constant	4.700	4.187	5.214	<0.0001
Age	0.000	−0.003	−0.003	0.8997
Sex (male)	−0.084	−0.155	−0.012	0.0215
Diabetes	−0.145	−0.212	−0.077	<0.0001
Hypertension	0.053	−0.012	0.118	0.1111
Current smoker	−0.086	−0.202	0.029	0.1421
Dyslipidemia	−0.051	−0.109	0.007	0.0858
Ejection fraction <40 %	0.050	−0.039	0.139	0.2666
eGFR (CKD-EPI)	−0.006	−0.008	−0.004	<0.0001
HS C-reactive protein	−0.058	−0.114	−0.002	0.0419
Calcidiol	−0.014	−0.017	−0.010	<0.0001
Phosphate	−0.068	−0.122	−0.015	0.0119
Ln FGF23 level	0.084	0.031	0.137	0.0019
Body mass index	0.003	−0.003	0.010	0.3460
Cerebrovascular events	−0.022	−0.165	0.121	0.7642
Peripheral artery disease	0.031	−0.110	0.172	0.6665
Atrial fibrillation	−0.026	−0.165	0.113	0.7117

$R^2 = 0.2747$

CI confidence interval, CKD-EPI Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration, eGFR estimated glomerular filtration rate, FGF23 fibroblast growth factor 23, HS high sensitivity

the age of our male patients was significantly lower than that of the healthy cohort, meaning that the lower calcidiol levels found in men with coronary artery disease may not be attributed to a poorer renal function or to an older age. It must be emphasized that patients with life-threatening comorbidities, among which were those receiving hemodialysis, were excluded from our study.

Of great interest, the abnormalities in mineral metabolism were present in CKD-MBD with an eGFR of less than 90 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. There is a high prevalence of a reduced eGFR in patients with coronary artery disease. Although the current data do not allow a firm diagnosis of CKD for patients with eGFR categories G1 and G2, due to the lack of confirmation in a second dataset 3 months apart and the lack of availability of UACRs (as is frequently the case for cardiology patients), we provide evidence that these low eGFRs, even within eGFR category G1, may be adversely affecting CKD-MBD parameters such as PTH and FGF23 levels and, thus, may be potentially contributing to findings frequently observed in coronary artery disease patients such as left ventricular hypertrophy, vascular and valve calcification, and high mortality rates [20, 22–32].

CKD is present in a substantial proportion of patients with coronary artery disease. In pooled data from five international multicenter trials, 16 % of 13,307 patients with acute coronary syndrome had an eGFR below 60 ml/

**Table 4** Multivariate analysis of predictors of fibroblast growth factor 23 levels

	<i>r</i>	95 % CI		<i>p</i>
		Low	High	
Constant	4.212	3.274	5.150	<0.0001
Age	−0.005	−0.010	−0.000	0.0407
Sex (male)	−0.191	−0.301	−0.080	0.0007
Diabetes	0.048	−0.058	0.155	0.3739
Hypertension	0.034	−0.067	0.135	0.5033
Current smoker	0.077	−0.102	0.257	0.3969
Dyslipidemia	−0.029	−0.119	0.062	0.5310
Ejection fraction < 40 %	0.029	−0.109	0.167	0.6783
eGFR (CKD-EPI)	−0.009	−0.012	−0.006	<0.0001
HS C-reactive protein	0.106	0.019	0.193	0.0165
Calcidiol	−0.002	−0.008	0.003	0.3895
Phosphate	0.101	0.018	0.183	0.0171
Ln PTH level	0.202	0.075	0.330	0.0019
Body mass index	0.002	−0.008	0.013	0.6465
Cerebrovascular events	−0.081	−0.303	0.141	0.4730
Peripheral artery disease	0.202	−0.016	0.420	0.0694
Atrial fibrillation	0.199	−0.016	0.415	0.0692

$R^2 = 0.178$ .

CI confidence interval, CKD-EPI Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration, eGFR estimated glomerular filtration rate, HS high sensitivity, PTH parathormone

min/1.73 m<sup>2</sup> [33]. More recently, the CLARIFY registry showed that 22.1 % of patients with stable coronary artery disease have an eGFR below this level [34], a proportion similar to the 20.3 % described in the present study. In addition, 76 % of patients had an eGFR assessed by the CKD-EPI equation below 90 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. This cut-off point includes a much higher percentage of patients than the usual limit of 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> to define CKD on the basis of eGFR alone (60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>). However, contrary to the common perception that mild decreases in eGFR (G1, G2) may be associated with treatable biochemical abnormalities, we describe the frequent occurrence of

increased serum PTH and FGF23 levels even at these early stages. Indeed, PTH and FGF23 levels negatively correlated with eGFR in the whole cohort, where eGFR was the main determinant of PTH and FGF23 levels in multivariate analysis. Furthermore, eGFR correlated with PTH levels even in eGFR category G1 and with FGF23 levels in eGFR category G2, suggesting an impact of eGFR on CKD-MBD even at eGFRs that are often considered “normal” for age.

Patients with CKD gradually lose the capacity to excrete phosphate because of reduced nephron numbers, which results in a trend toward a positive phosphate balance [19]. Mild decreases in eGFR (eGFR category G2) are associated with decreased glomerular filtration of phosphate and compensatory responses to maintain phosphate homeostasis, such as an increased FGF23 and PTH levels [8, 19]. In this regard, high FGF23 levels indicate a physiological response to a state of phosphate excess that is due to an increase in dietary intake or a reduction in kidney excretion, and may be associated with soft tissue phosphate deposition, even in the absence of high serum phosphate levels. Uremia favors vascular deposition of phosphate [35]. FGF23 protects against excess phosphate by decreasing kidney tubular phosphate reabsorption, thus promoting urinary phosphate excretion, and by inhibiting activation of calcidiol to 1,25-dihydroxyvitamin D in kidney tubular cells [36, 37]. The resulting low 1,25-dihydroxyvitamin D levels impair calcium and phosphate absorption in the gut, thus protecting against dietary phosphate excess. However, low 1,25-dihydroxyvitamin D levels promote a trend toward hypocalcemia and increased PTH concentration [19, 38]. The high prevalence of nutritional and sun-induced vitamin D deficiency in the general population and in coronary artery disease patients could cause a decrease in calcidiol availability for activation in the kidneys [39]. As a result of high FGF23 and PTH levels, serum phosphate levels remain within normal limits up to very advanced CKD stages [5, 15].

Patients with reduced GFR or CKD are at increased risk of adverse cardiac outcomes [15, 40, 41]. In patients with no CKD, bone mineral disorders have also been linked to

**Table 5** Estimated glomerular filtration rate (eGFR) and parameters of mineral metabolism stratified by age

	≤60 years ( <i>n</i> = 358)	>60–75 years ( <i>n</i> = 243)	>75 years ( <i>n</i> = 103)	<i>p</i>
eGFR (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	85.1 ± 16.5	69.6 ± 16.2	58.5 ± 16.0	<0.001
Calcidiol (ng/dl)	19.2 (14.1–24.5)	19.3 (13.5–25.6)	16.1 (12.8–21.3)	0.015
FGF23 (RU/dl)	66.6 (51.7–85.0)	76.5 (56.8–103.8)	81.3 (61.1–124.9)	<0.001
PTH (pg/dl)	55.5 (43.0–69.6)	60.2 (46.9–80.8)	77.6 (50.8–97.9)	<0.001
Phosphate (mg/dl)	3.22 ± 0.57	3.17 ± 0.53	3.23 ± 0.53	0.484

Categorical variables are presented as percentages, quantitative variables with a normal distribution are presented as the mean ± standard deviation, and those not normally distributed are presented as the median (with the interquartile range in *parentheses*).

FGF23 fibroblast growth factor 23, PTH parathormone, RU relative units

the severity of coronary artery disease, as seen on coronary angiography [42], as well as to increased carotid intima-media thickness [43] and ventricular hypertrophy [44]. Serum levels of calcidiol, PTH, phosphate, and FGF23 have been associated with prevalent and incident cardiovascular disease, suggesting a role for bioregulators of bone and mineral metabolism in cardiovascular health. Observational studies have clearly linked high FGF23 and low calcidiol levels with adverse patient outcomes [12, 20, 22–28, 45–47]. Studies linking high serum PTH levels with adverse outcomes are more controversial [29–32]. Because in the present study calcidiol levels were not related to eGFR and high phosphate levels were very uncommon, we will discuss only FGF23 and PTH.

Higher FGF23 levels are independently associated with death and cardiovascular events in coronary patients and in the community as well as with risk of stroke independently of renal function [17, 20, 22–28]. In the Heart and Soul Study, patients in the highest tertile of FGF23 level had an 83 % increase in cardiovascular events [22]. The increased risk conferred by higher FGF23 levels may be related to the status of FGF23 as a marker of phosphate excess, as a marker of klotho deficiency, or direct adverse effects of FGF23 promoting left ventricular hypertrophy or vascular calcification [6, 9, 19, 20, 26]. In this regard, although serum phosphate levels were mostly within normal limits in our study, there is a graded independent relation between higher levels of serum phosphate and the risk of death and cardiovascular events in persons with prior myocardial infarction, most of whom had serum phosphate levels within the normal range [48], as well as in other non-CKD populations [13, 14, 49, 50].

In our study, multivariate analysis showed that eGFR is the main determinant of serum FGF23 levels. In addition, phosphate, hsCRP and PTH were directly correlated to FGF23 levels. These associations may be causal, according to knowledge gathered from experimental animal models. Thus, excess phosphate is the main physiological stimulus increasing FGF23 levels [19, 50]. In addition, systemic inflammation lowers kidney klotho levels [51] and decreased kidney klotho levels alone may result in higher FGF23 levels [9]. The existence of these independent drivers of FGF23 levels may explain the presence of high FGF23 levels in 18 % of patients with an eGFR of 90 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> or greater. Thus, either systemic inflammation or excess dietary phosphate may result in increased FGF23 secretion. In this regard, the multivariate model explained only 18 % of the FGF23 level variability. These data suggest an important role of additional factors, potentially including an excess of phosphate ingestion.

Elevated PTH level has been associated with a greater prevalence and incidence of cardiovascular risk factors and predicts a greater likelihood of prevalent and incident

disease and death [28], even in patients with stable coronary artery disease [29]. In the Uppsala Longitudinal Study in Adult Men (ULSAM) community-based study, higher PTH level was independently associated with a 38 % greater risk of cardiovascular death [30]. However, no association between PTH and the risk of coronary heart disease was observed in the Health Professionals Follow-up Study in 51,529 healthy professionals aged 40–75 years in 1986 during 10 years of follow-up [31], and a recent meta-analysis did not show an association between PTH and all-cause death in CKD [32]. In our study there was a high incidence of elevated PTH levels in coronary artery disease patients. In multivariate analysis low eGFRs and low calcidiol levels were the main independent determinants of higher serum PTH levels. In addition, there was an independent negative correlation between serum phosphate and PTH. The negative correlation between serum phosphate and PTH levels clearly differs from the positive correlation between serum phosphate and FGF23 levels. This observation is consistent with excess phosphate being the primary driver of FGF23 secretion, whereas hypocalcemia and low calcidiol levels are the key drivers of PTH secretion. Thus, when PTH levels are increased in response to low calcium levels or low vitamin D levels (which also impair phosphate absorption from the gut), the resulting increased urinary phosphate excretion may lead to lower serum phosphate levels. The independent positive correlation between PTH and FGF23 may be the result of complex interactions between both molecules. Thus, FGF23 directly suppresses PTH secretion [52]. However, the trend toward hypocalcemia as a result of FGF23-mediated suppression of vitamin D activation may increase PTH levels [19, 38]. Finally, the presence of diabetes correlated inversely with PTH levels. As hyperglycemia is known to suppress PTH secretion [53], it could be hypothesized that this feature could interfere with the development of atherosclerosis in diabetes. However, low serum PTH levels may have also an adverse effect on the cardiovascular system through different mechanisms. Low PTH levels decrease bone turnover, and may lead to adynamic bone disease [54], a well-recognized clinical entity in CKD which is associated not only with increased risk of bone fractures but also vascular calcifications, which may at least partially explain the association of this disorder with increased mortality rates. Moreover, diabetes, as well as aging, has been associated with this disorder [54]. Then, there is no reason to hypothesize that PTH suppression in diabetes could modify favorably the clinical course of diabetes-related atherosclerotic changes.

This study has some limitations. Urine albumin, klotho, and calcium plasma levels were not measured, and renal echography was not performed. Such data could have added important information to this article.



In conclusion, patients with coronary artery disease have low plasma levels of calcidiol even when compared with a healthy cohort. Even more, in the subgroup of men these results were present without differences in creatinine plasma levels and with coronary patients being younger than healthy controls. In addition, in our population, this decrease in calcidiol and the increase in FGF23 and PTH levels are evident at an eGFR below 90 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. The current standard in many countries for eGFR assessment is the MDRD formula, and actual results are only reported if the eGFR is below 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. This approach results in unawareness by the treating physicians of low eGFR in coronary artery disease patients. We propose that the KDIGO 2012 guidelines for CKD be followed and that reporting of actual eGFR values based on the CKD-EPI formula be implemented. Further studies are needed to explore whether reducing phosphorus intake and/or vitamin D supplementation will restore normal PTH and FGF23 levels in coronary artery disease patients with a reduced eGFR and whether this intervention improves patient outcomes.

**Acknowledgments** We thank Pedro Almeida, Rosario De Nicolás Miguel, Dolores Asensio, Pilar Jiménez Caballero, Marta Hernán Bru, Esmeralda Serrano Blázquez, Ana Encinas Pastor, Arantxa Garcian-dia Esquisábel, Consuelo Ceballos Jiménez, Belén Arribas Moreno, Sara Ares-Carrasco, Belén Picatoste, and Elisa Ramírez-Bustillo at IIS-Fundación Jiménez Díaz, María Pacheco Delgado, Rosa Jiménez Hernández, José M. Serrano Antolín, Alejandro Curcio Ruigómez, Pedro Talavera Calle, and Catherine Graupner Abad at Hospital de Fuenlabrada, José M. Hernández-Riesco, María del Carmen García-García, Mercedes García-Rodrigo, José Luis Alonso-Guillén, and Patricia Cuenca-Gómez at Hospital de Móstoles, and Noelia Aragón Díaz at Hospital Fundación Alcorcón. Oliver Shaw (IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain) assisted us in editing the manuscript. Funding was provided by Fondo de Investigaciones Sanitarias (PI10/00072, PI14/00386, PIE13/00051, PI05/0451, PI05/1497, PI05/52475, PI05/1043, PS09/01405, PI14/1567) y FRIAT, the Spanish Society of Cardiology, the Spanish Heart Foundation, the Spanish Society of Arteriosclerosis, REDINREN (RD012/0021), Biobank grants from Instituto de Salud Carlos III FEDER, RD09/0076/00101 (IIS-Fundación Jiménez Díaz Biobank), and Abbvie Laboratories. PN I + D + I 2008-2011 and Instituto de Salud Carlos III were co-financed by FEDER, CIBERDEM, and e-PREDICE.

#### Compliance with ethical standards

**Conflict of interest** The authors declare that they have no conflict of interest.

## References

- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group (2013) KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl* 3:1–150
- Stevens LA, Li S, Kurella Tamura M, Chen SC, Vassalotti JA, Norris KC, Whaley-Connell AT, Bakris GL, McCullough PA (2011) Comparison of the CKD epidemiology collaboration (CKD-EPI) and modification of diet in renal disease (MDRD) study equations: risk factors for and complications of CKD and mortality in the kidney early evaluation program (KEEP). *Am J Kidney Dis* 57:S9–S16
- Abu-Assi E, Lear P, Cabanas-Grandío P, Rodríguez-Girondo M, Raposeiras-Roubin S, Pereira-López E, Romaní SG, Gil CP, García-Acuña JM, González-Juanatey JR (2013) A comparison of the CKD-EPI, MDRD-4, and Cockcroft-Gault equations to assess renal function in predicting all-cause mortality in acute coronary syndrome patients. *Int J Cardiol* 167:2325–2326
- National Kidney Foundation (2002) K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 39:S1–S266
- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group (2009) KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int* 76 (Suppl 113):1–130
- Faul C, Amaral AP, Oskouei B, Hu MC, Sloan A et al (2011) FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest* 121:4393–4408
- Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, Ohyama Y, Kurabayashi M, Kaname T, Kume E, Iwaseki H, Iida A, Shiraki-Iida T, Nishikawa S, Nagai R, Nabeshima YI (1997) Mutation of the mouse *kltho* gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature* 390:45–51
- Hu MC, Shi M, Zhang J, Quiñones H, Griffith C, Kuro-o M, Moe OW (2011) *Klotho* deficiency causes vascular calcification in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 22:124–136
- Lindberg K, Amin R, Moe OW, Hu MC, Erben RG, Östman Wernerson A, Lanske B, Olsson H, Larsson TE (2014) The kidney is the principal organ mediating *kltho* effects. *J Am Soc Nephrol* 25:2169–2175
- Tuñón J, Cristóbal C, Tarín N, Aceña Á, González-Casas ML, Huelmos A, Alonso J, Lorenzo Ó, González-Parra E, Mahillo-Fernández I, Pello AM, Carda R, Farré J, Rodríguez-Artalejo F, López-Bescós L, Egido J (2014) Coexistence of low vitamin D and high fibroblast growth factor-23 plasma levels predicts an adverse outcome in patients with coronary artery disease. *PLoS One* 9:e95402
- Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, Feldman HI, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Greene T, Coresh J (2009) A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 150:604–612
- Rojas-Rivera J, De La Piedra C, Ramos A, Ortiz A, Egido J (2010) The expanding spectrum of biological actions of vitamin D. *Nephrol Dial Transplant* 25:2850–2865
- Ellam TJ, Chico TJ (2012) Phosphate: the new cholesterol? The role of the phosphate axis in non-uremic vascular disease. *Atherosclerosis* 220:310–318
- Gonzalez-Parra E, Tuñón J, Egido J, Ortiz A (2012) Phosphate: a stealthier killer than previously thought? *Cardiovasc Pathol* 21:372–381
- Ramos AM, Albalade M, Vázquez S, Caramelo C, Egido J, Ortiz A (2008) Hyperphosphatemia and hyperparathyroidism in incident chronic kidney disease patients. *Kidney Int Suppl* 74:88–93
- Chapuy MC, Preziosi P, Maamer M, Arnaud S, Galan P, Hercberg S, Meunier PJ (1997) Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos Int* 7:439–443
- Fliser D, Kollerits B, Neyer U, Ankerst DP, Lhotta K, Lingenhel A, Ritz E, Kronenberg F, MMKD Study Group, Kuen E, Köhler P, Kraatz G, Mann JF, Müller GA, Köhler H, Riegler P (2008) Fibroblast growth factor 23 (FGF23) predicts progression of chronic kidney disease: the Mild to Moderate Kidney Disease (MMKD) Study. *J Am Soc Nephrol* 18:2600–2608

18. Hu MC, Kuro-o M, Moe OW (2012) The emerging role of klotho in clinical nephrology. *Nephrol Dial Transplant* 27:2650–2657
19. Rodríguez M, López I, Muñoz J, Aguilera-Tejero E, Almaden Y (2012) FGF23 and mineral metabolism, implications in CKD-MBD. *Nefrología* 32:275–278
20. Larsson TE (2010) The role of FGF-23 in CKD-MBD and cardiovascular disease: friend or foe? *Nephrol Dial Transplant* 25:1376–1381
21. Olmos JM, Hernández JL, García-Velasco P, Martínez J, Llorca J, González-Macías J (2015) Serum 25-hydroxyvitamin D, parathyroid hormone, calcium intake, and bone mineral density in Spanish adults. *Osteoporos Int*. doi:10.1007/s00198-015-3219-6
22. Parker BD, Schurgers LJ, Brandenburg VM, Christenson RH, Vermeer C, Ketteler M, Shlipak MG, Whooley MA, Ix JH (2010) The associations of fibroblast growth factor 23 and uncarboxylated matrix Gla protein with mortality in coronary artery disease: the heart and soul study. *Ann Intern Med* 152:640–648
23. Razzaque MS (2009) Does FGF23 toxicity influence the outcome of chronic kidney disease? *Nephrol Dial Transplant* 24:4–7
24. Årnlov J, Carlsson AC, Sundström J, Ingelsson E, Larsson A, Lind L, Larsson TE (2013) Higher fibroblast growth factor-23 increases the risk of all-cause and cardiovascular mortality in the community. *Kidney Int* 83:160–166
25. Wright CB, Dong C, Stark M, Silverberg S, Rundek T, Elkind MS, Sacco RL, Mendez A, Wolf M (2014) Plasma FGF23 and the risk of stroke: the Northern Manhattan Study (NOMAS). *Neurology* 82:1700–1706
26. Jimbo R, Kawakami-Mori F, Mu S, Hirohama D, Majtan B, Shimizu Y, Yatomi Y, Fukumoto S, Fujita T, Shimosawa T (2014) Fibroblast growth factor 23 accelerates phosphate-induced vascular calcification in the absence of klotho deficiency. *Kidney Int* 85:1103–1111
27. Kanbay M, Nicoleta M, Selcoki Y, Ikizel M, Aydin M, Eryonucu B, Duranay M, Akcay A, Armutcu F, Covic A (2010) Fibroblast growth factor 23 and fetuin A are independent predictors for the coronary artery disease extent in mild chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 5:1780–1786
28. Anderson JL, Vanwoerkom RC, Horne BD, Bair TL, May HT, Lappé DL, Muhlestein JB (2011) Parathyroid hormone, vitamin D, renal dysfunction, and cardiovascular disease: dependent or independent risk factors? *Am Heart J* 162:331–339
29. Grandi NC, Breitling LP, Hahmann H, Wüsten B, März W, Rothenbacher D, Brenner H (2011) Serum parathyroid hormone and risk of adverse outcomes in patients with stable coronary heart disease. *Heart* 97:1215–1221
30. Hagström E, Hellman P, Larsson TE, Ingelsson E, Berglund L, Sundström J, Melhus H, Held C, Lind L, Michaëlsson K, Årnlov J (2009) Plasma parathyroid hormone and the risk of cardiovascular mortality in the community. *Circulation* 119:2765–2771
31. Taylor EN, Rimm EB, Stampfer MJ, Curhan GC (2011) Plasma fibroblast growth factor 23, parathyroid hormone, phosphorus, and risk of coronary heart disease. *Am Heart J* 161:956–962
32. Palmer SC, Hayen A, Macaskill P, Pellegrini F, Craig JC, Elder GJ, Strippoli GF (2011) Serum levels of phosphorus, parathyroid hormone, and calcium and risks of death and cardiovascular disease in individuals with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 305:1119–1127
33. Gibson CM, Dumaine RL, Gelfand EV, Murphy SA, Morrow DA, Wiviott SD, Giugliano RP, Cannon CP, Antman EM, Braunwald E (2004) Association of glomerular filtration rate on presentation with subsequent mortality in non-ST-segment elevation acute coronary syndrome; observations in 13,307 patients in five TIMI trials. *Eur Heart J* 25:1998–2005
34. Kalra PR, García-Moll X, Zamorano J, Kalra PA, Fox KM, Ford I, Ferrari R, Tardif JC, Tendera M, Greenlaw N, Steg PG, Investigators CLARIFY (2014) Impact of chronic kidney disease on use of evidence-based therapy in stable coronary artery disease: a prospective analysis of 22,272 patients. *PLoS One* 9:e102335. doi:10.1371/journal.pone.0102335
35. Giachelli CM (2009) The emerging role of phosphate in vascular calcification. *Kidney Int* 75:890–897
36. Dusso AS, Tokumoto M (2011) Defective renal maintenance of the vitamin D endocrine system impairs vitamin D renoprotection: a downward spiral in kidney disease. *Kidney Int* 79:715–729
37. Hasegawa H, Nagano N, Urakawa I, Yamazaki Y, Iijima K, Fujita T, Yamashita T, Fukumoto S, Shimada T (2010) Direct evidence for a causative role of FGF23 in the abnormal renal phosphate handling and vitamin D metabolism in rats with early-stage chronic kidney disease. *Kidney Int* 78:975–980
38. Rodríguez-Ortiz ME, Lopez I, Muñoz-Castañeda JR, Martínez-Moreno JM, Ramírez AP, Pineda C, Canalejo A, Jaeger P, Aguilera-Tejero E, Rodríguez M, Felsenfeld A, Almaden Y (2012) Calcium deficiency reduces circulating levels of FGF23. *J Am Soc Nephrol* 23:1190–1197
39. Bolland MJ, Grey AB, Ames RW, Mason BH, Horne AM, Gamble GD, Reid IR (2007) The effects of seasonal variation of 25-hydroxyvitamin D and fat mass on a diagnosis of vitamin D sufficiency. *Am J Clin Nutr* 86:959–964
40. Imai A, Komatsu S, Ohara T, Kamata T, Yoshida J, Miyaji K, Shimizu Y, Takewa M, Hirayama A, Deshpande GA, Takahashi O, Kodama K (2011) Serum cystatin C is associated with early stage coronary atherosclerotic plaque morphology on multidetector computed tomography. *Atherosclerosis* 218:350–355
41. Ortiz A, Covic A, Fliser D, Fouque D, Goldsmith D, Kanbay M, Mallamaci F, Massy ZA, Rossignol P, Vanholder R, Wiecek A, Zoccali C, London GM (2014) Epidemiology, contributors to, and clinical trials of mortality risk in chronic kidney failure. *Lancet* 383:1831–1843
42. Rasouli M, Kiasari AM (2006) Serum calcium and phosphorus associate with the occurrence and severity of angiographically documented coronary heart disease, possibly through correlation with atherogenic (apo)lipoproteins. *Clin Chem Lab Med* 44:43–50
43. Onufrak SJ, Bellasi A, Shaw LJ, Herzog CA, Cardarelli F, Wilson PW, Vaccarino V, Raggi P (2008) Phosphorus levels are associated with subclinical atherosclerosis in the general population. *Atherosclerosis* 199:424–431
44. Saab G, Whooley MA, Schiller NB, Ix JH (2010) Association of serum phosphorus with left ventricular mass in men and women with stable cardiovascular disease: data from the heart and soul study. *Am J Kidney Dis* 56:496–505
45. Martins D, Wolf M, Pan D, Zadhari A, Tareen N, Thadhani R, Felsenfeld A, Levine B, Mehrotra R, Norris K (2007) Prevalence of cardiovascular risk factors and the serum levels of 25-hydroxyvitamin D in the United States: data from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Arch Intern Med* 167:1159–1165
46. Grandi NC, Breitling LP, Vossen CY, Hahmann H, Wüsten B, März W, Rothenbacher D, Brenner H (2010) Serum vitamin D and risk of secondary cardiovascular disease events in patients with stable coronary heart disease. *Am Heart J* 159:1044–1051
47. Gonzalez-Parra E, Rojas-Rivera J, Tuñón J, Praga M, Ortiz A, Egido J (2012) Vitamin D receptor activation and cardiovascular disease. *Nephrol Dial Transplant* 27(Suppl):17–21
48. Tonelli M, Sacks F, Pfeffer M, Gao Z, Curhan G, Cholesterol And Recurrent Events Trial Investigators (2005) Relation between serum phosphate level and cardiovascular event rate in people with coronary disease. *Circulation* 112:2627–2633
49. Cancela AL, Santos RD, Titan SM, Goldenstein PT, Rochitte CE, Lemos PA, dos Reis LM, Gracioli FG, Jorgetti V, Moysés RM (2012) Phosphorus is associated with coronary artery disease in patients with preserved renal function. *PLoS One* 7:e36883

50. Evenepoel P, Meijers B, Viaene L, Bammens B, Claes K, Kuypers D, Vanderschueren D, Vanrenterghem Y (2010) Fibroblast growth factor-23 in early chronic kidney disease: additional support in favor of a phosphate-centric paradigm for the pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. *Clin J Am Soc Nephrol* 5:1268–1276
51. Moreno JA, Izquierdo MC, Sanchez-Niño MD, Suárez-Alvarez B, Lopez-Larrea C, Jakubowski A, Blanco J, Ramirez R, Selgas R, Ruiz-Ortega M, Egido J, Ortiz A, Sanz AB (2011) The inflammatory cytokines TWEAK and TNF $\alpha$  reduce renal klotho expression through NF $\kappa$ B. *J Am Soc Nephrol* 22:1315–1325
52. Olauson H, Lindberg K, Amin R, Sato T, Jia T, Goetz R, Mohammadi M, Andersson G, Lanske B, Larsson TE (2013) Parathyroid-specific deletion of klotho unravels a novel calcineurin-dependent FGF23 signaling pathway that regulates PTH secretion. *PLoS Genet* 9:e1003975
53. Polymeris AD, Doumouchtsis KK, Giagourta I, Karga H (2011) Effect of an oral glucose load on PTH, 25OHD3, calcium, and phosphorus homeostasis in postmenopausal women. *Endocr Res* 36:45–52
54. Bover J, Ureña P, Brandenburg V, Goldsmith D, Ruiz C, DaSilva I, Bosch RJ (2014) Adynamic bone disease: from bone to vessels in chronic kidney disease. *Semin Nephrol* 34:626–640





# Coexistence of Low Vitamin D and High Fibroblast Growth Factor-23 Plasma Levels Predicts an Adverse Outcome in Patients with Coronary Artery Disease

José Tuñón<sup>1,2,3\*</sup>, Carmen Cristóbal<sup>4,5</sup>, Nieves Tarín<sup>6</sup>, Álvaro Aceña<sup>1</sup>, María Luisa González-Casas<sup>7</sup>, Ana Huelmos<sup>8</sup>, Joaquín Alonso<sup>4,5</sup>, Óscar Lorenzo<sup>2,3</sup>, Emilio González-Parra<sup>3,9</sup>, Ignacio Mahillo-Fernández<sup>10</sup>, Ana María Pello<sup>1</sup>, Rocío Carda<sup>1</sup>, Jerónimo Farré<sup>1,3</sup>, Fernando Rodríguez-Artalejo<sup>11</sup>, Lorenzo López-Bescós<sup>5,9</sup>, Jesús Egido<sup>2,3,9,12,9</sup>

**1** Department of Cardiology, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain, **2** Laboratory of Vascular Pathology, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain, **3** Autónoma University, Madrid, Spain, **4** Department of Cardiology, Hospital de Fuenlabrada, Fuenlabrada, Spain, **5** Rey Juan Carlos University, Alcorcón, Spain, **6** Department of Cardiology, Hospital Universitario de Móstoles, Madrid, Spain, **7** Laboratory of Nephrology and Mineral Metabolism, Hospital Gómez-Ulla, Madrid, Spain, **8** Department of Cardiology, Hospital Universitario Fundación Alcorcón, Madrid, Spain, **9** Department of Nephrology, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain, **10** Department of Epidemiology, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain, **11** Department of Preventive Medicine and Public Health, School of Medicine, Universidad Autónoma de Madrid/IdiPaz and CIBERESP, Madrid, Spain, **12** CIBERDEM, Madrid, Spain

## Abstract

**Objective:** Vitamin D and fibroblast growth factor-23 (FGF-23) are related with cardiovascular disorders. We have investigated the relationship of calcidiol (vitamin D metabolite) and FGF-23 plasma levels with the incidence of adverse outcomes in patients with coronary artery disease.

**Methods:** Prospective follow-up study of 704 outpatients, attending the departments of Cardiology of four hospitals in Spain, 6–12 months after an acute coronary event. Baseline calcidiol, FGF-23, parathormone, and phosphate plasma levels were assessed. The outcome was the development of acute ischemic events (any acute coronary syndrome, stroke, or transient ischemic attack), heart failure, or death. Cox regression adjusted for the main confounders was performed.

**Results:** Calcidiol levels showed a moderate-severe decrease in 57.3% of cases. Parathormone, FGF-23, and phosphate levels were increased in 30.0%, 11.5% and 0.9% of patients, respectively. Only 22.4% of patients had glomerular filtration rate < 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. After a mean follow-up was 2.15 ± 0.99 years, 77 patients developed the outcome. Calcidiol (hazard ratio [HR] = 0.67; 95% confidence interval [CI] = 0.48–0.94; p = 0.021) and FGF-23 (HR = 1.13; 95% CI = 1.04–1.23; p = 0.005) plasma levels predicted independently the outcome. There was a significant interaction between calcidiol and FGF-23 levels (p = 0.025). When the population was divided according to FGF-23 levels, calcidiol still predicted the outcome independently in patients with FGF-23 levels higher than the median (HR = 0.50; 95% CI = 0.31–0.80; p = 0.003) but not in those with FGF-23 levels below this value (HR = 1.03; 95% CI = 0.62–1.71; p = 0.904).

**Conclusions:** Abnormalities in mineral metabolism are frequent in patients with stable coronary artery disease. In this population, low calcidiol plasma levels predict an adverse prognosis in the presence of high FGF-23 levels.

**Citation:** Tuñón J, Cristóbal C, Tarín N, Aceña Á, González-Casas ML, et al. (2014) Coexistence of Low Vitamin D and High Fibroblast Growth Factor-23 Plasma Levels Predicts an Adverse Outcome in Patients with Coronary Artery Disease. PLoS ONE 9(4): e95402. doi:10.1371/journal.pone.0095402

**Editor:** Carmine Pizzi, University of Bologna, Italy

**Received:** February 6, 2014; **Accepted:** March 26, 2014; **Published:** April 18, 2014

**Copyright:** © 2014 Tuñón et al. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Funding:** This work was supported by grants from the following: Fondo de Investigaciones Sanitarias (PI05/0451, PI05/1497, PI05/52475, PI05/1043, PS09/01405, and PI10/00072); <http://www.isciii.es/ISCIII/es/contenidos/fd-investigacion/fd-financiacion/convocatorias-ayudas-accion-estrategica-salud.shtml>; Spanish Society of Cardiology; Spanish Heart Foundation. <http://www.secardiologia.es/>; Spanish Society of Arteriosclerosis. [www.searteriosclerosis.org](http://www.searteriosclerosis.org/); RECAVA (RD06/0014/0035); [www.recava.com](http://www.recava.com/); Fundación Lilly. <https://www.lilly.es/nuestra-compania/fundacion-lilly-folder>; Instituto de Salud Carlos III FEDER (FJD biobank: RD09/0076/00101); <http://www.isciii.es/>; and AbbVie Laboratories. <http://www.abbvie.es/>. The funders had no role in study design, data collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

**Competing Interests:** J. Egido is lecturer for AbbVie laboratories. The remaining authors have no conflict of interest. This does not alter the authors' adherence to PLOS ONE policies on sharing data and materials.

\* E-mail: [jtunon@secardiologia.es](mailto:jtunon@secardiologia.es)

These authors contributed equally to this work.

## Background

Renal disease is associated with increased cardiovascular risk. When mild decrements in glomerular filtration rate appear, phosphate elimination decreases. High phosphate serum levels

have been associated with increased mortality and cardiovascular events even in the absence of renal disease [1]. Compensatory responses to maintain phosphate homeostasis include an increase in fibroblast growth-23 (FGF-23) and a subsequent rise in parathormone levels [2]. FGF-23 promotes phosphaturia and

diminishes vitamin D plasma levels, downregulating its synthesis and enhancing its degradation [2].

Adaptive mechanisms appear before serum phosphate levels are increased. These mechanisms have also been related to vascular damage [3,4]. High FGF-23 plasma levels are independently associated with endothelial dysfunction, arterial stiffness, left ventricular hypertrophy, progression of renal disease, incidence of mortality and cardiovascular events [3,4]. Vitamin D deficiency has been associated with hypertension, coronary artery disease (CAD) and stroke [5,6]. In addition, vitamin D attenuates left ventricular hypertrophy [7,8]. However, no information is available regarding the possible influence of the relationship between these molecules on the prognosis of patients with CAD.

We have studied 704 patients with CAD in order to assess whether plasma levels of calcidiol (a vitamin D metabolite) and FGF-23 are related to the incidence of adverse outcomes, and the potential influence of their relationship on the prognosis.

## Methods

### Patients

The BACS & BAMi (Biomarkers in Acute Coronary Syndrome & Biomarkers in Acute Myocardial Infarction) studies included patients admitted to four hospitals in Madrid with either non-ST elevation acute coronary syndrome (NSTEMI) or ST-elevation myocardial infarction (STEMI). NSTEMI was defined as rest angina lasting more than 20 minutes in the previous 24 hours, or new-onset class III-IV angina, along with transient ST depression or T wave inversion in the electrocardiogram considered diagnostic by the attending cardiologist and/or troponin elevation. STEMI was defined as symptoms compatible with angina lasting more than 20 minutes and ST elevation in two adjacent leads in the electrocardiogram without response to nitroglycerin, and troponin elevation. Exclusion criteria were: age over 85 years, coexistence of other significant cardiac disorders except left ventricular hypertrophy secondary to hypertension, coexistence of any illness or toxic habits that could limit patient survival, impossibility to perform revascularization when indicated, and subjects in whom follow-up was not possible. In order to avoid variability of findings due to an excessive heterogeneity in the intervals between the acute event and blood extraction, the investigators agreed to exclude patients that were not clinically stable the sixth day after the index event.

In addition to plasma extraction at discharge, a second plasma sample was obtained between six and twelve months later, when the patients were stable. The present paper is a sub-study of BACS & BAMi studies, and reports data from the clinical and analytic findings obtained at the moment of this extraction, relating them to subsequent follow-up.

Between July 2006 and April 2010, 1,898 patients were discharged from the study hospitals with a diagnosis of NSTEMI or STEMI. Eight hundred thirty-eight patients were included in the study. The remaining patients were not included due to the following: age over 85 years (17.3%), presence of disorders or toxic habits limiting survival (29.0%), impossibility to perform cardiac revascularization (14.5%), coexistence of other significant cardiopathy (6.8%), impossibility to perform follow-up (12.0%), clinical instability beyond the sixth day after the index event (9.1%), refusal to participate in the study (2.0%), and impossibility of the investigators to include them (9.3%). Of the 838 patients included in the acute phase, 7 died before the second visit, and 709 had adequate plasma samples withdrawn six to twelve months after being discharged. These patients were included in the present sub-study. Plasma extraction and baseline visits took place between

January 2007 and February 2011. Last follow-up visits were carried out on May 2012.

### Ethics Statement

The research protocol conforms to the ethical guidelines of the 1975 Declaration of Helsinki as reflected in a priori approval by the human research committees of the institutions participating in this study: Fundación Jiménez Díaz, Hospital Fundación Alcorcón, Hospital de Fuenlabrada y Hospital Universitario de Móstoles. All patients signed informed consent documents.

### Study Design

At baseline, clinical variables were recorded and twelve-hour fasting venous blood samples were withdrawn and collected in EDTA. Blood samples were centrifuged at 2,500 g for 10 minutes and plasma was stored at  $-80^{\circ}\text{C}$ . Patients were seen every year at their hospital. At the end of follow-up (maximum 4.6 years) the medical records were reviewed and patient status was confirmed by telephone contact.

The outcome was the combination of acute ischemic events (NSTEMI, STEMI, stroke and transient ischemic attack) plus heart failure and all-cause mortality. NSTEMI and STEMI were defined as explained above. A past myocardial infarction was diagnosed in the presence of new pathological Q waves in the electrocardiogram along with a concordant new myocardial scar identified either by echocardiography or nuclear magnetic resonance imaging. Stroke was defined as rapid onset of a neurologic deficit attributable to a focal vascular cause lasting more than 24 hours or supported by new cerebral ischemic lesions at imaging studies. A transient ischemic attack was defined as a transient stroke with signs and symptoms resolving before 24 hours without cerebral acute ischemic lesions at imaging techniques. Heart failure was a clinical diagnosis made in accordance to practice guidelines [9]. Events were adjudicated by at least two investigators of the study, along with a neurologist for cerebrovascular events. Although all events were recorded for each case, patients were excluded from the Cox regression analysis after the first event. Then, although the total number of events is described, patients that had more than one event were computed only once for these analyses.

### Biomarker and Analytical Studies

Plasma determinations were performed at the laboratory of Nephrology at the Gómez-Ulla hospital and at the Biochemistry Laboratory at Fundación Jiménez Díaz. The investigators who performed the laboratory studies were unaware of clinical data. Plasma calcidiol levels were quantified by chemiluminescent immunoassay (CLIA) on the LIAISON XL analyzer (LIAISON 25OH-Vitamin D total Assay DiaSorin, Saluggia, Italy), FGF-23 was measured by an enzyme-linked immunosorbent assay which recognizes epitopes within the carboxyl-terminal portion of FGF-23 (Human FGF-23, C-Term, Immutopics Inc, San Clemente, CA), intact parathormone was analyzed by a second-generation automated chemiluminescent method (Elecys 2010 platform, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), phosphate was determined by an enzymatic method (Integra 400 analyzer, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), and high-sensitivity C-reactive protein was assessed by latex-enhanced immunoturbidimetry (ADVIA 2400 Chemistry System, Siemens, Germany). Lipids, glucose and creatinine determinations were performed by standard methods (ADVIA 2400 Chemistry System, Siemens, Germany).

**Table 1.** Baseline characteristics of patients.

	Patients Without Events (N = 627)	Patients with Events (N = 77)	P value
Age (yr)	59.0 (51.0–71.0)	72.0 (61.5–77.0)	<0.001
Male sex (%)	76.7	63.6	0.017
Caucasian (%)	97.0	97.4	1.000
Body-mass index (Kg/m <sup>2</sup> )	28.4 (25.7–30.8)	28.6 (25.7–34.1)	0.134
Diabetes (%)	22.0	33.8	0.031
Present smoker (%)	6.7	5.2	0.808
Hypertension (%)	62.4	88.3	<0.001
Peripheral artery disease (%)	3.3	7.8	0.105
Cerebrovascular events (%)	3.0	6.5	0.170
Previous CABG (%)	7.3	16.9	0.008
Previous PCI (%)	78.1	77.9	1.000
Ejection fraction <40% (%)	11.6	13.0	0.016
Past or present Atrial fibrillation (%)	3.3	16.9	<0.001
Aspirin (%)	92.7	85.7	0.045
Clopidogrel (%)	68.6	61.0	0.197
Acenocumarol (%)	4.6	15.6	0.001
Statins (%)	88.7	79.2	0.026
Oral antidiabetic drugs (%)	17.4	20.8	0.434
Insulin (%)	5.4	14.3	0.006
ACEI/ARB (%)	71.0	64.9	0.291
Aldosterone receptor blockers	5.1	11.7	0.034
Betablockers (%)	77.2	70.1	0.200
Verapamil (%)	0.5	0.0	1.000
Diltiazem (%)	2.7	7.8	0.031
Dihydropyridines (%)	15.9	22.1	0.193
Diuretics (%)	17.7	32.5	0.003
Digoxin (%)	0.3	1.3	0.294
<b>DATA FROM LAST ACS</b>			
STEMI/NSTEACS (%)	39.6/60.4	31.2/68.8	0.173
Number of vessels diseased	1.35 ± 0.80	1.57 ± 0.83	0.022
Left main disease (%)	3.8	5.2	0.804
Revascularization (%)	80.5	72.7	0.136
Type of revascularization			0.331
CABG (%)	4.9	5.2	
Drug-eluting stent (%)	47.6	36.4	
Conventional stent (%)	25.8	29.9	
Balloon angioplasty (%)	2.1	1.3	
No revascularization (%)	19.5	27.3	
Complete revascularization (%)	67.3	49.1	0.007
<b>ANALYTICAL DATA</b>			
LDL cholesterol (mg/dl)	82.7 ± 24.2	86.7 ± 35.2	0.335
HDL cholesterol (mg/dl)	43.7 ± 10.7	45.2 ± 12.2	0.250
Non-HDL cholesterol (mg/dl)	108.3 ± 29.7	114.0 ± 39.6	0.224
Triglycerides (mg/dl)	130.4 ± 84.7	136.8 ± 66.7	0.522
Glycemia (mg/dl)	109.0 ± 33.3	110.2 ± 46.9	0.786
GFR (MDRD) (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	73.4 (61.9–84.1)	64.1 (48.2–79.2)	<0.001
HS C-reactive protein (mg/L)	4.41 ± 9.73	5.20 ± 9.11	0.499
Calcidiol (ng/ml)	19.0 (14.0–24.7)	16.5 (10.6–23.4)	0.003
Calcidiol range			0.004
≤10 ng/ml	9.5	22.1	

**Table 1.** Cont.

	Patients Without Events (N = 627)	Patients with Events (N = 77)	P value
<b>10.01–20.0 ng/ml</b>	46.3	46.8	
<b>20.01–30 ng/ml</b>	33.1	26.0	
<b>&gt;30.0 ng/ml</b>	11.1	5.2	
<b>FGF-23 (RU/ml)</b>	69.3 (53.9–93.1)	85.0 (61.9–118.2)	<b>0.003</b>
<b>Parathormone (pg/ml)</b>	59.4 (44.4–75.9)	65.1 (48.1–93.0)	<b>0.025</b>
<b>Phosphate (mg/dl)</b>	3.23±1.38	3.35±0.61	0.489

Categorical variables are presented as percentages, quantitative variables with normal distribution as mean±SD and those not normally distributed as median (interquartile range).

ACEI: Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors; ACS: Acute coronary syndrome; ARB: Angiotensin receptor blockers; CABG: Coronary Artery by-pass graft; FGF-23: Fibroblast Growth Factor-23; GFR: Glomerular Filtration Rate; HDL: High-density lipoprotein; HS: High-Sensitivity; LDL: Low-density lipoprotein; MDRD: Modification of diet in renal disease; NSTEMI: Non-ST Elevation Acute Coronary Syndrome; PCI: Percutaneous coronary Intervention; STEMI: ST-Elevation Myocardial Infarction. doi:10.1371/journal.pone.0095402.t001

## Statistical Analysis

Quantitative data following a normal distribution are presented as mean±standard deviation (SD), those not normally distributed are displayed as median (interquartile range), and qualitative variables are presented as percentages. Also, correlations between quantitative variables were assessed with the Spearman's rho coefficient ( $r$ ).

Given the existence of four clinically relevant categories [10], calcidiol levels were assessed using these categories instead of studying it as a continuous variable: 0.00–10.00 ng/ml (severe deficiency), 10.01–20.00 ng/ml (moderate deficiency), 20.01–30.00 ng/ml (insufficiency/suboptimal levels), and higher than 30.00 ng/ml (sufficiency). In univariate analyses, the association of categories of calcidiol and FGF-23 with the adverse outcome was summarized by Kaplan-Meier curves. Differences in baseline data of patients meeting the primary outcome as compared to those remaining stable were assessed using  $\chi^2$  or Fisher exact test for qualitative data. For quantitative variables, a Student's t-test was performed for those following a normal distribution, and the Mann-Whitney test was used in those not normally distributed. All variables that showed significant differences in these tests (Table 1) were entered into a multivariate Cox model with stepwise forward selection of variables. In this model, the interaction between calcidiol and FGF-23 was assessed with an interaction term defined as the product of those variables dichotomized using the sample median; statistical significance was assessed with the Wald test. Given that “p” value for interaction was 0.025, analyses were repeated in two strata defined by the median of FGF-23.

Analyses were performed with SPSS 19.0 (SPSS Inc., New York), and were considered significant when “p” was lower than 0.05 (two-tailed).

## Results

### Baseline Characteristics of the Patients

From the 709 patients included, 5 were lost to follow-up, leaving a total of 704 for analysis. Age was  $61.4 \pm 12.3$  years. Estimated glomerular filtration rate was  $72.0 \pm 18.0$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> (Modification of Diet in Renal Disease Method) and 22.4% of patients had this value below 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. Time from last acute coronary event was  $7.5 \pm 3.0$  months. Four patients (0.6%) were taking vitamin D supplements.

Calcidiol levels were up to 10.0 ng/ml in 10.9% of patients, 10.01–20.00 ng/ml in 46.4%, 20.01–30.0 ng/ml in 32.3% and higher than 30 ng/dl in 10.4%. Parathormone levels were 59.7

(45.5–77.5) pg/ml, and 30% of the patients displayed increased levels (higher than 74 pg/ml). Phosphate levels were 3.2 (2.8–3.5) mg/dl, with 0.9% of cases with values above 4.5 mg/dl. FGF-23 levels were 69.9 (54.5–96.3) RU/ml, with 11.5% of cases above 130 RU/ml.

### Clinical Events

Mean follow-up was  $2.15 \pm 0.99$  years. Seventy-seven patients developed the outcome. Of these, 12 suffered two events and 5 developed 3 events. There were 39 NSTEMI, 4 STEMI, 8 strokes, 10 transient ischemic attacks, 16 episodes of heart failure and 22 deaths. Eight deaths were due to cardiovascular causes, four to malignancies and one to infection, renal failure, bowel ischemia, gastrointestinal bleeding and pancreatitis. Five deaths were of unknown etiology.

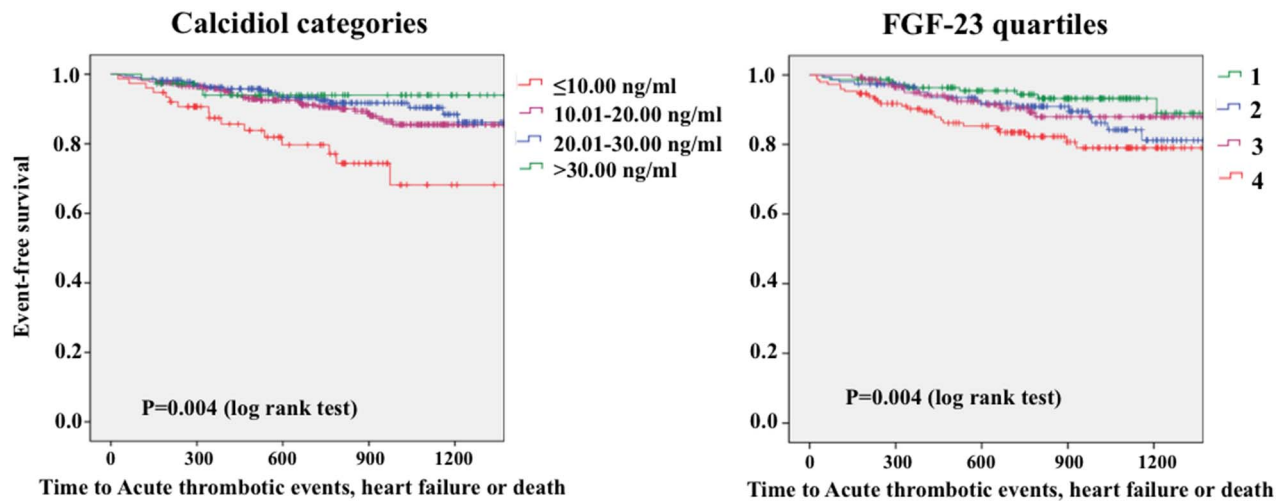
### Relationship of Calcidiol and FGF-23 Plasma Levels with Prognosis in the Whole Population

Kaplan-Meier curves showed that prognosis was worse as plasma calcidiol levels decreased ( $p = 0.004$ ) (Figure 1, left). Conversely, progressively increasing levels of FGF-23 were associated with poorer prognosis ( $p = 0.004$ ) (Figure 1, right). Patients that developed the outcome had higher FGF-23 and parathormone plasma levels but low calcidiol levels and glomerular filtration rate than those who remained stable (Table 1). Phosphate, high sensitivity C-reactive protein and lipid levels showed no differences between both groups. In multivariate analyses, FGF-23 plasma levels and calcidiol categories remained as independent predictors of outcome, along with age and hypertension (Table 2).

### Influence of the Relationship between Calcidiol and FGF-23 Levels on Prognosis

To explore this relationship, we divided the population in two groups according to median FGF-23 levels (69.9 RU/mL). Kaplan-Meier curves showed that the relationship between the different calcidiol categories and outcome observed in the whole population did not hold in patients with FGF-23 levels equal or below the median ( $p = 0.763$ ) (Figure 2, left). In contrast, this association became more evident in the subgroup with FGF-23 levels above the median ( $p = 0.002$ ) (Figure 2, right).

When Cox multivariate analysis was repeated in patients with FGF-23 plasma levels above the median, calcidiol categories were still independent predictors of the outcome (Table 3). However,



**Figure 1. Kaplan-Meier survival curves showing the differences in outcome in the whole population.** Low calcidiol (left) and high FGF-23 (right) plasma levels are associated with a worse prognosis.  
doi:10.1371/journal.pone.0095402.g001

calcidiol was no longer an independent predictor of the outcome in patients with FGF-23 plasma levels below the median (Table 4).

#### Relationship between Mineral Metabolism Parameters and Estimated Glomerular Filtration Rate, Age, Sex and C-reactive Protein

There was a modest inverse correlation between estimated glomerular filtration rate and both FGF-23 ( $r = -0.351$ ;  $p < 0.001$ ) and parathormone ( $r = -0.255$ ;  $p < 0.001$ ). Calcidiol ( $r = 0.000$ ;  $p = 1.000$ ) and phosphate ( $r = -0.034$ ;  $p = 0.376$ ) were not correlated with renal function. Similarly, age showed a mild correlation with FGF-23 ( $r = 0.209$ ;  $p < 0.001$ ) and parathormone ( $r = 0.236$ ;  $p < 0.001$ ), but it did not correlate with calcidiol ( $r = -0.036$ ;  $p = 0.343$ ) and phosphate levels ( $r = -0.031$ ;  $p = 0.420$ ).

Compared to men, women showed lower levels of calcidiol (17.1 [12.3–23.3] versus 19.3 [14.1–24.9] ng/ml;  $p = 0.003$ ) but higher FGF-23 (84.6 [65.6–124.2] versus 66.8 [52.5–89.6] RU/mL;  $p < 0.001$ ), parathormone (70.4 [52.1–91.2] pg/mL versus 56.9 [43.5–73.8];  $p < 0.001$ ) and phosphate (3.4 [3.1–3.8] versus 3.1 [2.8–3.5] mg/dl;  $p < 0.001$ ).

C-reactive protein showed a mild correlation with FGF-23 ( $r = 0.159$ ;  $p < 0.001$ ) and calcidiol ( $r = -0.111$ ;  $p = 0.003$ ), but not with parathormone ( $r = -0.009$ ;  $p = 0.814$ ) or phosphate ( $r = 0.050$ ;  $p = 0.191$ ).

By multivariate linear regression analysis we investigated how much of calcidiol (Table 5) and FGF-23 plasma levels (Table 6) were explained by age, sex, glomerular filtration rate, and parathormone, phosphate, and high sensitivity C-reactive protein plasma levels. The  $R^2$  value was 0.121 for calcidiol and 0.187 for FGF-23 plasma levels, indicating that the variables studied explained only a low percentage of the variation of these parameters.

#### Discussion

This study demonstrates for the first time that the combination of calcidiol and FGF-23 plasma levels is a strong predictor of adverse events in patients with CAD.

Our report also shows that the abnormalities of mineral metabolism are present in a remarkable number of patients with CAD, even although only one-fifth of them had an estimated glomerular filtration rate lower than 60 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>. The presence of these alterations is not merely a marker of decreased renal function, as the estimated glomerular filtration rate did not correlate with calcidiol and phosphate and showed only a mild correlation with FGF-23 and parathormone.

We have also demonstrated that low vitamin D levels were independently associated with an adverse prognosis in patients with CAD. These findings are in accordance with several previous studies. Three meta-analyses, including patients with and without

**Table 2. Multivariable Cox model for the incidence of the outcome in the whole population.**

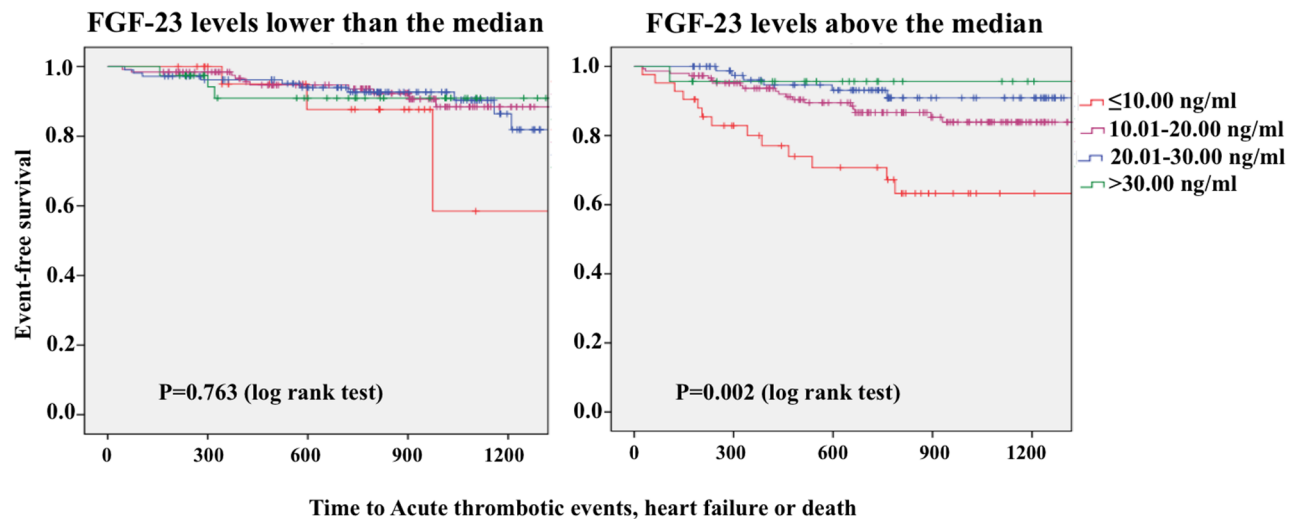
	Hazard Ratio	95% CI		P value
		Lower	Upper	
Age	1.05	1.03	1.07	<0.001
Hypertension	2.61	1.22	5.58	0.013
FGF-23	1.13*	1.04*	1.23*	0.005
Calcidiol	0.67	0.48	0.94	0.021

CI: Confidence Interval; FGF-23: Fibroblast Growth Factor-23.

\*Increase in hazard ratio per 100 RU/mL.

Calcidiol is assessed as categorical variable. Reference category is: 0.00–10.00 ng/mL.

doi:10.1371/journal.pone.0095402.t002



**Figure 2. Kaplan-Meier survival curves showing the differences in outcome as predicted by calciol in population subgroups according to FGF-23 plasma levels.** In patients with FGF-23 lower than or equal to the median (69.9 RU/mL), calciol plasma levels are no longer associated with prognosis (left). However, calciol levels are still strongly associated with a worse prognosis in the subgroup with FGF-23 levels above the median (right).

doi:10.1371/journal.pone.0095402.g002

cardiovascular disease at baseline, found an inverse association between circulating 25-hydroxyvitamin D levels and risk of cardiovascular disease and cardiovascular death [11–13]. Also, low plasma vitamin levels have been associated with the severity of CAD [14,15]. On the other hand, high vitamin D levels are associated with decreased risk of CAD in the general population [6,16]. In fact, low vitamin D may lead to endothelial dysfunction, inflammation, activation of the renin-angiotensin system, vascular smooth muscle cell proliferation and vascular calcification and myocardial infarction [5,14,17–19]. Very recently, Siasos et al found that vitamin D deficiency was an independent predictor of adverse outcome in patients with CAD undergoing coronary angiography [20]. However, the sample size was lower than that of the present study, and the other components of mineral metabolism were not assessed.

Conversely, vitamin D plasma levels failed to predict the incidence of cardiovascular events and mortality in patients with stable CAD randomized to two doses of atorvastatin [21]. It was hypothesized that statins could overcome the vascular damage related to vitamin D deficiency. However, in our study, most patients were receiving statins and, in spite of this, calciol levels predicted an adverse outcome.

Calciol levels showed a mild correlation with C-reactive protein and no correlation with estimated glomerular filtration rate, suggesting that calciol levels provide prognostic information

that is unrelated to these factors. Nevertheless, in our patients, none of these variables were independent predictors of an adverse prognosis. Indeed, C-reactive protein levels were not different between both groups at baseline. Although this molecule has been suggested to be an independent risk predictor, not all the studies confirm this idea [22]. Regarding glomerular filtration rate, although patients developing events displayed lower values of this parameter at baseline, it was also not an independent predictor of adverse prognosis at multivariate analysis. It seems possible that calciol and also FGF-23 levels are more direct markers of the abnormalities leading to cardiovascular damage in renal dysfunction than glomerular filtration rate. Of interest, lipid levels were not different between patients that met the primary outcome and those who remained stable. Although the prognostic implication of this parameter is well known, it is possible that this information is less useful in patients on secondary prevention as, in this setting, intensive statin therapy is advised, and lipid levels become more homogeneous and thus may have less ability to discriminate prognosis.

A second finding of this study was that high FGF-23 plasma levels were also a strong independent predictor of adverse prognosis. Plasma levels of this phosphaturic hormone gradually rise in chronic kidney disease to prevent hyperphosphatemia. FGF-23 is also a potent inhibitor of parathormone secretion and reduces vitamin D levels through decreased production and

**Table 3. Multivariable Cox model for the incidence of the outcome in patients with FGF-23 plasma levels higher than the median.**

	Hazard Ratio	95% CI		P value
		Lower	Upper	
Age	1.06	1.03	1.09	<0.001
Hypertension	3.60	1.10	11.78	0.011
Calciol	0.50	0.31	0.80	0.003

CI: Confidence Interval.

Calciol is assessed as categorical variable. Reference category is: 0.00–10.00 ng/ml.

doi:10.1371/journal.pone.0095402.t003



**Table 4.** Multivariable Cox model for the incidence of the outcome in patients with FGF-23 plasma levels equal or lower than the median.

	Hazard Ratio	95% CI		P value
		Lower	Upper	
<b>Age</b>	1.04	1.01	1.07	0.023
<b>Hypertension</b>	2.54	0.92	6.98	0.052
<b>Calcidiol</b>	1.03	0.62	1.71	0.904

CI: Confidence Interval.

Calcidiol is assessed as categorical variable. Reference category is: 0.00–10.00 ng/ml.

doi:10.1371/journal.pone.0095402.t004

enhanced catabolism [2,23]. High FGF-23 levels are associated with an enhanced risk of mortality in patients undergoing hemodialysis [24]. Although these levels could reflect the risk associated with vitamin D deficiency and hyperparathyroidism, it has been hypothesized that this factor itself could contribute to cardiovascular disease. In this sense, FGF-23 has been related with endothelial dysfunction, increased arterial stiffness, high atherosclerosis burden in the community, vascular calcification, left ventricular hypertrophy, and progression of renal disease [3,25–29].

Several studies have reported different results about the relationship between FGF-23 and CAD. In the Uppsala Longitudinal Study of Adult Men (ULSAM), high FGF-23 blood levels were also associated with increased risk of cardiovascular mortality in the community, even after adjustment for glomerular filtration rate [28]. On the other hand, no relationship between cardiovascular risk and FGF-23, parathormone, and phosphate plasma levels was found in men without cardiovascular disease at baseline after adjusting for 25-hydroxyvitamin D levels and clinical data in the Health Professionals Follow-up Study (HPFS) [30]. However, the profile of these populations was quite different. In the ULSAM study, 27% of cases had a previous diagnosis of cardiovascular disease, glomerular filtration rate was lower, and age and FGF-23 plasma levels were higher than in the HPFS study. Then, it seems that FGF-23 may be specially effective as a prognostic marker in populations at high risk of adverse outcomes. In this regard, our study included population at high risk, with a previous diagnosis of CAD and a glomerular filtration rate more similar to that of patients from the ULSAM study. Also, our patients had lower vitamin D and high FGF-23, PTH and phosphate plasma levels than those of the HPFS study. Finally, the Heart and Soul Study showed a relationship between FGF-23 and cardiovascular risk patients with CAD and average renal function [4]. The present study extends this observation investigating also the relationship

between the prognostic value of FGF-23 and vitamin D plasma levels.

The most relevant finding of this study was that the ability of low calcidiol levels to predict an adverse outcome was limited to those cases where FGF-23 was higher than the median, with this predictive power disappearing when FGF-23 was equal or below these levels. Of interest, the prognostic information provided by both metabolites was independent as evidenced by the multivariate analysis. This finding is important, since a wide collection of clinical and analytical data have been assessed, including high sensitivity C-reactive protein and lipid levels.

As explained, FGF-23 contributes to decrease vitamin D levels. A recent work has shown that predialysis patients with high FGF-23 and low vitamin D levels have higher probability of doubling serum creatinine or initiating dialysis [31]. Similarly, a study carried out in patients with advanced chronic kidney disease showed that low plasma vitamin D levels were associated with death and initiation of long-term dialysis, but FGF-23 levels attenuated this relationship [32]. However, this is the first time that this association has been found related to an adverse clinical outcome in patients with CAD. This relationship may be important in understanding why some studies have found that low vitamin D levels are not associated with increased cardiovascular risk [21]. It may also be relevant to explain the controversial results obtained in studies with vitamin D supplementation [33–35] and it should be taken into account in the design of future trials, as the effect of vitamin D could depend on FGF-23 plasma levels. Furthermore, as vitamin D supplementation may increase FGF-23 levels [36], monitoring this factor could be of interest in future clinical trials. Finally, both calcidiol and FGF-23 plasma levels could be considered in the design of future risk scales for patients with CAD.

There are limitations in this study. 1) Urinary albumin was not measured in our population, so earlier stages of chronic renal

**Table 5.** Multivariate linear regression analysis assessing the relationship of calcidiol with other variables studied.

	b coefficient	95% CI		P value
		Lower	Upper	
<b>Intercept</b>	54.69	47.26	62.11	<0.001
<b>Log PTH</b>	−7.47	−8.99	−5.96	<0.001
<b>GFR</b>	−0.06	−0.09	−0.02	0.001
<b>Log hs-CRP</b>	−0.67	−1.16	−0.18	0.007

R<sup>2</sup> = 0.121.

Age, sex, Glomerular filtration rate (GFR), Log parathormone (PTH), Phosphate and Log high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) were assessed in the model.

doi:10.1371/journal.pone.0095402.t005

**Table 6.** Multivariate linear regression analysis assessing the relationship of FGF-23 with other variables studied.

	b coefficient	95% CI		P value
		Lower	Upper	
<b>Intercept</b>	3.87	3.18	4.56	<0.001
<b>Sex</b>	−0.15	−0.26	−0.04	0.007
<b>Log PTH</b>	0.20	0.08	0.32	0.001
<b>Phosphate</b>	0.12	0.04	0.20	0.005
<b>GFR</b>	−0.01	−0.01	−0.01	<0.001
<b>Log hs-CRP</b>	0.06	0.03	0.10	0.001

$R^2 = 0.187$ .

Age, sex, Glomerular filtration rate (**GFR**), Log parathormone (**PTH**), Phosphate and Log high sensitivity C-reactive protein (**hs-CRP**) were assessed in the model.  
doi:10.1371/journal.pone.0095402.t006

disease could have gone undetected. 2) Excluding patients not clinically stable during the first days after the index event could introduce a certain bias, because these patients would probably have a worse prognosis. Nevertheless, only nine percent of cases were excluded for this reason.

## Conclusions

Low calcidiol plasma levels are an independent predictor of adverse outcome in patients with stable CAD who have high FGF-23 levels. Assessment of both, calcidiol and FGF-23 plasma concentration could be of interest in risk prediction in these patients.

## Acknowledgments

We acknowledge Oliver Shaw (IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain) for his assistance in editing this work. The following persons participated in this study, in blood extraction, plasma isolation, biobank organization or occasional patient recruitment: **IIS-Fundación Jiménez Díaz:** Pedro Almeida, MD, PhD, Javier Higuera, MD, Rosario De Nicolás Miguel, LT, Dolores Asensio, MD, Pilar Jiménez Caballero, RN, Marta Hernán Bru, RN, Esmeralda Serrano Blázquez, RN, Ana Encinas

Pastor, RN, Arantxa Garcíandia, RN, Consuelo Ceballos Jiménez, RN, Belén Arribas Moreno, RN, Belén Picatoste, BSc, Elisa Ramírez-Bustillo, BSc, **Hospital de Fuenlabrada:** María Pacheco Delgado, MD, Rosa Jiménez Hernández, MD, José M. Serrano Antolín, MD, Alejandro Curcio Ruigómez, MD, Pedro Talavera Calle, MD, and Catherine Graupner Abad, MD. **Hospital de Móstoles:** José M. Hernández-Riesco, MD, María del Carmen García-García, PhD, Mercedes García-Rodrigo, RN, José Luis Alonso-Guillén, RN, Patricia Cuenca-Gómez, RN. **Hospital Fundación Alcorcón:** Noelia Aragón Díaz, RN.

The results reported in this paper were presented at the Meetings of the American College of Cardiology, March 9–11, 2013, San Francisco; European Society of Cardiology, Aug 31–Sept 04, 2013, Amsterdam; and Spanish Society of Cardiology, October 24–26, 2013, Valencia.

## Author Contributions

Conceived and designed the experiments: JT LLB JA JF JE. Performed the experiments: JT CC JA NT AA AH AP RC LLB. Analyzed the data: JT IMF AA FRA OL JE. Contributed reagents/materials/analysis tools: OL EGP MLGC. Wrote the paper: JT MLGC EGP LLB JE. Critical revision of the manuscript for important intellectual content: JT CC NT AA MLGC AH JA OL EGP IMF AP RC JF FRA LLB JE. Approval of the final version: JT CC NT AA MLGC AH JA OL EGP IMF AP RC JF FRA LLB JE.

## References

- Ketteler M, Wolf M, Hahn K, Ritz E (2013) Phosphate: a novel cardiovascular risk factor. *Eur Heart J* 34: 1099–1101.
- Wolf M (2010) Forging forward with 10 burning questions on FGF23 in kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 21: 1427–1435.
- Faul C, Amaral AP, Oskoue B, Hu MC, Sloan A, et al. (2011) FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest* 121: 4393–4408.
- Parker BD, Schurgers LJ, Brandenburg VM, Christenson RH, Vermeer C, et al. (2010) The associations of fibroblast growth factor 23 and uncarboxylated matrix Gla protein with mortality in coronary artery disease: the Heart and Soul Study. *Ann Intern Med* 152: 640–648.
- Lavie CJ, Lee JH, Milani RV (2011) Vitamin D and cardiovascular disease will it live up to its hype? *J Am Coll Cardiol* 58: 1547–1556.
- Scragg R, Jackson R, Holdaway IM, Lim T, Beaglehole R (1990) Myocardial infarction is inversely associated with plasma 25-hydroxyvitamin D3 levels: a community-based study. *Int J Epidemiol* 19: 559–563.
- Bodyak N, Ayus JC, Achinger S, Shivalingappa V, Ke Q, et al. (2007) Activated vitamin D attenuates left ventricular abnormalities induced by dietary sodium in Dahl salt-sensitive animals. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104: 16810–16815.
- Wu J, Garami M, Cheng T, Gardner DG (1996) 1,25 (OH)<sub>2</sub> vitamin D<sub>3</sub> and retinoic acid antagonize endothelin-stimulated hypertrophy of neonatal rat cardiac myocytes. *J Clin Invest* 97: 1577–1588.
- McMurray JJ, Adamopoulos S, Anker SD, Auricchio A, Böhm M, et al. (2012) ESC Guidelines for the diagnosis and treatment of acute and chronic heart failure 2012: The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Acute and Chronic Heart Failure 2012 of the European Society of Cardiology. Developed in collaboration with the Heart Failure Association (HFA) of the ESC. *Eur Heart J* 33: 1787–847.
- Holick M (2008) Vitamin D and Sunlight: Strategies for Cancer Prevention and other Health Benefits. *Clin J Am Soc Nephrol* 3: 1548–1554.
- Wang L, Song Y, Manson JE, Pilz S, März W, et al. (2012) Circulating 25-hydroxy-vitamin d and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis of prospective studies. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 5: 819–829.
- Grandi NC, Breitling LP, Brenner H (2010) Vitamin D and cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Prev Med* 51: 228–233.
- Brøndum-Jacobsen P, Benn M, Jensen GB, Nordestgaard BG. (2012) 25-hydroxyvitamin d levels and risk of ischemic heart disease, myocardial infarction, and early death: population-based study and meta-analyses of 18 and 17 studies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 32: 2794–2802.
- Syal SK, Kapoor A, Bhatia E, Sinha A, Kumar S, et al. (2012) Vitamin D deficiency, coronary artery disease, and endothelial dysfunction: observations from a coronary angiographic study in Indian patients. *J Invasive Cardiol* 24: 385–389.
- Chen WR, Qian YA, Chen YD, Shi Y, Yin DW, et al. (2013) The Effects of Low Vitamin D on Coronary Artery Disease. *Heart Lung Circ Sep* 3. pii: S1443–9506 (13) 01162-1. doi:10.1016/j.hlc.2013.08.012. [Epub ahead of print].
- Karakas M, Thorand B, Zierer A, Huth C, Meisinger C, et al. (2013) Low Levels of Serum 25-Hydroxyvitamin D Are Associated with Increased Risk of Myocardial Infarction, Especially in Women: Results from the MONICA/KORA Augsburg Case-Cohort Study. *J Clin Endocrinol Metab* 98: 272–280.
- Watson KE, Abrolat ML, Malone LL, Hoeg JM, Doherty T, et al. (1997) Active serum vitamin D levels are inversely correlated with coronary calcification. *Circulation* 96: 1755–1760.
- De Borst MH, Vervloet MG, ter Wee PM, Navis G (2011) Cross talk between the renin-angiotensin-aldosterone system and vitamin D-FGF-23-klotho in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 22: 1603–1609.



19. Gonzalez-Parra E, Rojas-Rivera J, Tuñón J, Praga M, Ortiz A, et al. (2012) Vitamin D receptor activation and cardiovascular disease. *Nephrol Dial Transplant* 27 (Suppl 4): 17–21.
20. Siasos G, Tousoulis D, Oikonomou E, Maniatis K, Kioufis S, et al. (2013) Vitamin D serum levels are associated with cardiovascular outcome in coronary artery disease. *Int J Cardiol* 168: 4445–4447.
21. Bittner V, Wenger NK, Waters DD, DeMicco DA, Messig M, et al. (2012) Vitamin D levels do not predict cardiovascular events in statin-treated patients with stable coronary disease. *Am Heart J* 164: 387–393.
22. Emberson J, Bennett D, Link E, Parish S, Danesh J, et al. (2011) C-reactive protein concentration and the vascular benefits of statin therapy: an analysis of 20,536 patients in the Heart Protection Study. *Lancet* 377: 469–476.
23. Shimada T, Kakitani M, Yamazaki Y, Hasegawa H, Takeuchi Y, et al. (2004) Targeted ablation of Fgf23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. *J Clin Invest* 113: 561–568.
24. Gutiérrez OM, Mannstadt M, Isakova T, Rauh-Hain JA, Tamez H, et al. (2008) Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *N Eng J Med* 359: 584–592.
25. Mirza MA, Larsson A, Lind L, Larsson TE (2009) Circulating FGF-23 is associated with vascular dysfunction in the community. *Atherosclerosis* 205: 385–390.
26. Mirza MA, Hansen T, Johansson L, Ahlström H, Larsson A, et al. (2009) Relationship between circulating FGF23 and total body atherosclerosis in the community. *Nephrol Dial Transplant* 24: 3125–3131.
27. Masai H, Joki N, Sugi K, Moroi M (2013) A preliminary study of the potential role of FGF-23 in coronary calcification in patients with suspected coronary artery disease. *Atherosclerosis* 226: 228–233.
28. Årnlöv J, Carlsson AC, Sundström J, Ingelsson E, Larsson A, et al. (2013) Higher fibroblast growth factor-23 increases the risk of all-cause and cardiovascular mortality in the community. *Kidney Int* 83: 160–166.
29. Scialla JJ, Ling Lau W, Reilly MP, Isakova T, Yang HY, et al. (2013) Fibroblast growth factor 23 is not associated with and does not induce arterial calcification. *Kidney Int* 83: 1159–1168.
30. Taylor EN, Rimm EB, Stampfer MJ, Curhan GC (2011) Plasma fibroblast growth factor 23, parathyroid hormone, phosphorus, and risk of coronary heart disease. *Am Heart J* 161: 956–962.
31. Nakano C, Hamano T, Fujii N, Matsui I, Tomida K, et al. (2012) Combined use of vitamin D status and FGF23 for risk stratification of renal outcome. *Clin J Am Soc Nephrol* 7: 810–819.
32. Kendrick J, Cheung AK, Kaufman JS, Greene T, Roberts WL, et al. (2012) Associations of plasma 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D concentrations with death and progression to maintenance dialysis in patients with advanced kidney disease. *Am J Kidney Dis* 60: 567–575.
33. Hsia J, Heiss G, Ren H, Allison M, Dolan NC, et al. (2007) Calcium/vitamin D supplementation and cardiovascular events. *Circulation* 115: 846–854.
34. Elamin MB, Abu Elnour NO, Elamin KB, Fatourehchi MM, Alkatib AA, et al. (2011) Vitamin D and cardiovascular outcomes: a systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 96: 1931–1942.
35. Thadhani R, Appelbaum E, Pritchett Y, Chang Y, Wenger J, et al. (2012) Vitamin D therapy and cardiac structure and function in patients with chronic kidney disease: the PRIMO randomized controlled trial. *JAMA* 307: 674–684.
36. Tang WJ, Wang LF, Xu XY, Zhou Y, Jin WF, et al. (2010) Autocrine/paracrine action of vitamin D on FGF23 expression in cultured rat osteoblasts. *Calcif Tissue Int* 86: 404–410.

# PARATHORMONE LEVELS ARE INDEPENDENTLY ASSOCIATED WITH THE PRESENCE OF LEFT VENTRICULAR HYPERTROPHY IN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE

Á. ACEÑA<sup>1</sup>, A.M. PELLO<sup>1</sup>, R. CARDÁ<sup>1</sup>, Ó. LORENZO<sup>2</sup>, M.L. GONZALEZ-CASAUS<sup>3</sup>, L.M. BLANCO-COLIO<sup>2</sup>, J.L. MARTÍN-VENTURA<sup>2</sup>, J. PALFY<sup>1</sup>, M. OREJAS<sup>1</sup>, R. RÁBAGO<sup>1</sup>, E. GONZALEZ-PARRA<sup>4</sup>, I. MAHÍLLO-FERNÁNDEZ<sup>5</sup>, J. FARRÉ<sup>1</sup>, J. EGIDO<sup>4</sup>, J. TUÑÓN<sup>1</sup>

1. Department of Cardiology, IIS-Fundación Jiménez Díaz-UAM; 2. Laboratory of Vascular Pathology, IIS-Fundación Jiménez Díaz-UAM; 3. Laboratory of Nephrology and Mineral Metabolism, Hospital Gómez-Ulla; 4. Laboratory of Vascular Pathology, Division of Nephrology and Hypertension, IIS-Fundación Jiménez Díaz-UAM; 5. Department of Epidemiology, IIS-Fundación Jiménez Díaz-UAM. Corresponding author: José Tuñón, Department of Cardiology, IIS-Fundación Jiménez Díaz-UAM, Avenida Reyes Católicos 2, 28040 Madrid, Spain, email: jtunon@secardiologia.es, Phone: 00-34-915504800 Ext-3701, Fax 00-34-915504904

**Abstract:** *Background:* Abnormalities of mineral metabolism and inflammation may affect the cardiovascular system. We have assessed the relationship of left ventricular hypertrophy (LVH) with inflammation and mineral metabolism. *Methods:* LVH was measured in 146 outpatients with stable coronary artery disease (SCAD) using echocardiography. Calcidiol (a vitamin D metabolite), parathyroid hormone (PTH), fibroblast growth factor-23, high-sensitivity C-reactive protein, MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1), galectin-3, NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin), and sTWEAK (soluble TNF-related weak inducer of apoptosis) plasma levels were studied. *Results:* LVH, defined as septal thickness  $\geq 11$  mm, was present in 19.9% of cases. These patients were older [75.0 (61.0-81.0) vs 64.0 (51.0-76.0) years;  $p=0.002$ ], had higher prevalence of left ventricular ejection fraction (LVEF) $>40\%$ , and had higher PTH [84.7 (59.6-104.7) vs 63.2 (49.2-85.2) pg/ml;  $p=0.007$ ], galectin-3 [9.6 (8.0-11.1) vs 8.3 (6.9-9.9) ng/ml;  $p=0.037$ ], and NGAL (208.5 $\pm$ 87.6 vs 173.9 $\pm$ 73.4 ng/ml;  $p=0.031$ ) plasma levels than those without LVH. Glomerular filtration rate was lower in patients with LVH than in those without it (65.1 $\pm$ 20.0 vs 74.7 $\pm$ 19.9 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>;  $p=0.021$ ). There were no significant differences in hypertension (79.3 vs 68.4%;  $p=0.363$ ) or sex between both groups. Variables showing differences based on univariate analysis and hypertension were entered into a logistic regression analysis. Only age [odds ratio (OR) = 1.052 (1.011-1.096);  $p=0.013$ ], PTH plasma levels [OR=1.017 (1.003-1.031);  $p=0.021$ ], and LVEF $>40\%$  [OR=7.595 (1.463-39.429);  $p=0.016$ ] were independent predictors of LVH. *Conclusions:* In patients with SCAD, elevated PTH levels are independently associated with the presence of LVH. Further studies are needed to elucidate the role of PTH in the development of myocardial hypertrophy.

**Key words:** Parathormone, left ventricular hypertrophy, mineral metabolism, stable coronary artery disease.

## Introduction

Left ventricular hypertrophy (LVH) is an independent predictor of cardiovascular mortality and morbidity (1).

Low circulating vitamin D and high parathyroid hormone (PTH) plasma levels have been associated with hypertension, myocardial hypertrophy, heart failure, and cardiovascular death (2–9). Similarly, high fibroblast growth factor-23 (FGF-23) levels have been related with renal and vascular disease (10), including LVH (11, 12).

In previous studies, PTH plasma levels have been associated with LVH in elderly subjects (13) and in patients with low estimated glomerular filtration rate (eGFR) (3), but there are no data exploring the correlation in non-elderly patients with average eGFR. Moreover, although increased levels of inflammatory biomarkers are associated with altered left ventricular geometry in age- and sex-adjusted models (14), there are no previous papers studying mineral metabolism components and inflammatory markers with LVH.

This study was designed to assess the association between echocardiographically determined LVH, mineral metabolism, and markers of inflammation in patients with stable coronary

artery disease (SCAD).

## Methods

### Patients

The BACS & BAMi (Biomarkers in Acute Coronary Syndrome & Biomarkers in Acute Myocardial Infarction) studies included patients admitted to four hospitals in Madrid with either non-ST elevation acute coronary syndrome or ST-elevation acute myocardial infarction. The inclusion criteria have been detailed previously (15).

Six to 12 months after the acute event, patients were evaluated on an outpatient basis. Plasma was withdrawn and clinical data were recorded again. This paper reports findings obtained at this visit in the subgroup of patients studied at our Institution. The research protocol was approved by the ethics committee of our Institution and all patients signed informed consent documents.

Between July 2006 and April 2010, 676 patients were discharged from our Institution with a diagnosis of non-ST elevation acute coronary syndrome or ST-elevation acute myocardial infarction. Of these, 284 were included in the

## PARATHORMONE LEVELS ARE INDEPENDENTLY ASSOCIATED WITH THE PRESENCE OF LEFT VENTRICULAR

study. The remaining patients were not included due to the following: age over 85 years (16.3%), presence of disorders or toxic habits limiting survival (36.0%), impossibility to perform cardiac revascularization (13.5%), coexistence of other significant cardiopathy (5.8%), impossibility to perform follow-up (12.0%), clinical instability beyond the 6th day at the index event (10.1%), refusal to participate in the study (1.0%), and impossibility of the investigators to include them (5.3%). Of the patients included, 2 died before the second visit, and 146 had available adequate plasma samples and an echocardiogram with images suitable for analysis.

### Study Design

This cross-sectional study was carried out during the visit performed 6-12 months after the acute coronary event. Twelve-hour fasting venous blood samples were collected in ethylenediaminetetraacetate tubes. An echocardiogram performed at an interval no longer than six months of blood extraction was analyzed.

Patients were considered to present hypertension if they had a history of systolic and/or diastolic pressure  $\geq 140/90$  mm Hg or if they were taking antihypertensive drugs for this disorder. Patients with current or past tobacco use were considered smokers. Patients receiving lipid-lowering therapy for this diagnosis and those with a history of fasting lipid LDL cholesterol  $>160$  mg/dl and/or triglyceride plasma levels  $>200$  mg/dl were considered to be diagnosed with dyslipidemia. Finally, patients were considered to be diabetics if they were receiving therapy for this disease or if they had evidence of fasting glucose levels  $>126$  mg/dl.

### Biomarker and Analytical Studies

Blood samples were centrifuged at 2,500 g for 10 minutes. Plasma was stored at  $-80^{\circ}\text{C}$  at the biobank of IIS-Fundación Jiménez Díaz-UAM. The investigators who performed the laboratory studies were unaware of echocardiographic data. Plasma calcidiol levels were quantified by chemiluminescent immunoassay (CLIA) on the LIAISON® XL analyzer (LIAISON 25OH-Vitamin D total Assay DiaSorin, Saluggia, Italy), FGF-23 was measured by an enzyme-linked immunosorbent assay which recognizes epitopes within the carboxyl-terminal portion of FGF-23 (Human FGF-23, C-Term, Immutopics Inc, San Clemente, CA), intact parathormone was analyzed by a second-generation automated chemiluminescent method (Elecsys 2010 platform, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany), and phosphate was determined by an enzymatic method (Integra 400 analyzer, Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). Plasma concentrations of MCP-1, galectin-3, sTWEAK, and NGAL were determined using commercially available enzyme-linked immunosorbent assay kits (BMS279/2 Bender MedSystems; DCP00, R&D Systems; BMS2006INST, Bender MedSystems; Kit 036, BioPorto; respectively) following the manufacturer's instructions. High-sensitivity C-reactive protein was assessed by latex-enhanced

immunoturbidimetry (ADVIA 2400 Chemistry System, Siemens, Germany). Lipids, glucose, albumin, calcium and creatinine determinations were performed by standard methods (ADVIA 2400 Chemistry System, Siemens, Germany).

### Echocardiographic Images

Two-Dimensional Transthoracic Echocardiographic assessment was performed according to a standardized echocardiographic protocol, using an iE33 or a Sonos 5500 ultrasound system (Philips Medical Systems) by experienced sonographers using an adult cardiac probe. Measurements of interventricular septum thickness (IVST) were obtained at end diastole following the recommendations of the American Society of Echocardiography (16). LVH was defined as  $\text{IVST} \geq 11$  mm. Left ventricular ejection fraction (LVEF) was calculated from the apical 4- and 2-chamber views using the Simpson's method. In patients with poor acoustic windows a qualitative evaluation of LVEF was done.

### Statistical Analysis

Quantitative data following a normal distribution are presented as mean  $\pm$  standard deviation (SD) and compared with the Student's t-test, while those not normally distributed are displayed as median (interquartile range), and compared using the Mann-Whitney test. Qualitative variables are presented as percentages and compared using  $\chi^2$  or Fisher exact test. Correlations between quantitative variables were assessed with the Spearman's rho coefficient ( $r$ ) and linear regression analysis. Clinical and analytical variables showing differences in patients with and without LVH, were entered in a logistic regression analysis, where the dependent variable was the presence of LVH.

Analyses were performed with SPSS 19.0 (SPSS Inc., New York), statistical tests were considered significant when " $p < 0.05$ " (two-tailed).

## Results

LVH was measured on echocardiography in 146 outpatients with SCAD. The average age was 67.5 (54.8-78.0) years, and 64.4% were male, 27.5% were smokers, 21.2% had diabetes, 42.9% had dyslipidemia and 56.6% had hypertension (in 35.6% of these hypertension was not controlled). The average of body mass index was 28.1 (25.8-30.5)  $\text{kg/m}^2$  and the eGFR was  $72.8 \pm 20.2$  ml/min/1.73  $\text{m}^2$ . Seventy-two percent of patients had  $\text{eGFR} > 60$  ml/min/1.73  $\text{m}^2$ .

LVH, defined as  $\text{IVST} \geq 11$  mm, was present in 19.9% of cases. Patients with LVH were older, had lower eGFR, higher prevalence of left ventricular ejection fraction ( $\text{LVEF} > 40\%$ ), and higher PTH, corrected calcium, NGAL, and galectin-3 plasma levels than those without LVH (Table 1). There was a non-significant trend towards an increased prevalence of hypertension in the LVH group.

All variables showing significant differences between LVH

**Table 1**  
Differences between patients with and without LVH

	No LVH( n=117)	LVH (n=29)	P value
Age	64 (61-81)	75 (51-76)	0.002
Sex (male)	76 (65%)	18 (62.1%)	0.830
Smoking	68.4%	15 (51.7%)	0.205
Hypertension	80 (68.4%)	23 (79.3%)	0.363
Dyslipidemia	62 (53%)	16 (55.2%)	1.000
Diabetes	24 (20.5%)	7 (24.1%)	0.623
BMI	27.8 (25.7-30.6)	28.5 (26.2-30.1)	0.795
Stroke	8 (6.8%)	1 (3.4%)	0.688
PAD	2 (1.7%)	1 (3.4%)	0.488
CABG previous	9 (7.7%)	3 (10.3%)	0.706
LVEF<40%	28 (23.9%)	2 (6.9%)	0.043
STEMI/NSTEACS	56 (47.9%) /61 (52.1%)	16 (55.2%) /13(44.8%)	0.538
eGFR (ml/min/1.73m2)	74.7±19.9	65.1±20	0.021
PCI	94 (80.3%)	23 (79.3%)	1.000
CABG	5 (4.3%)	2 (6.9%)	0.626
Calcidiol (ng/ml)	19.6±8.2	16.6±6.3	0.069
FGF-23 (RU/ml)	86.7±98.4	90.2±62.1	0.855
Parathormone (pg/ml)	63.2 (49.2-85.2)	84.7 (59.6-104.7)	0.007
Phosphate (mg/ml)	3.56±3.02	3.14±0.56	0.462
Calcium (mg/dL)	9.3 (9.0-9.6)	9.5 (9.1-9.8)	0.095
Albumin (gr/dl)	4.3 (4.0-4.5)	4.3 (4.1-4.3)	0.521
Corrected calcium (mg/dL)	9.1 (8.8-9.4)	9.3 (9.1-9.7)	0.027
MCP-1 (pg/ml)	147.8±61.4	173.1±67.9	0.053
sTWEAK(pg/ml)	229.7±110.7	236.6±186.8	0.797
NGAL (ng/ml)	173.9±73.4	208.5±87.6	0.031
Galectin-3 (mg/L)	8.3 (6.9-9.9)	9.6 (8.0-11.1)	0.037
HS-CRP (mg/L)	4.96±11.86	3.33±3.76	0.467
ASA	107 (91.5%)	27 (93.1%)	1.000
Clopidogrel	90 (76.9%)	25 (86.2%)	0.322
Acenocumarol	8 (6.8%)	0 (0%)	0.357
Statins	111 (94.9%)	28 (96.6%)	1.000
Antialdosteronic drugs	13 (11.1%)	2 (6.9%)	0.736
Beta-blockers	84 (71.8%)	25 (86.2%)	0.152
Verapamil	23.9%	0 (0%)	-
Diuretics	28 (23.9%)	13 (44.8%)	0.037
Diltiazem	1 (0.9%)	0 (0.0%)	1.000
ACEI	85 (72.6%)	22 (75.9%)	0.818
ARB	21 (17.9%)	8 (27.6%)	0.298
Dihydropyridines	16 (13.7%)	8 (27.6%)	0.092
Oral antidiabetic drugs	14 (12.0%)	6 (20.7%)	0.234
Insulin	8 (6.8%)	2 (6.9%)	1.000
Alpha-blockers	4 (3.4%)	0 (0.0%)	0.585

ACEI: angiotensin-converting-enzyme inhibitor; ARB: Angiotensin II receptor blockers; ASA: Acetylsalicylic acid; BMI: Body mass index; CABG: coronary artery bypass graft; eGFR: glomerular filtration rate; FGF-23: Fibroblast growth factor 23; HS-CRP: High-sensitivity C-Reactive protein; LVEF: left ventricular ejection fraction; MCP-1: monocyte chemotactic protein 1; NGAL: neutrophil gelatinase-associated lipocalin; NSTEACS: Non-ST elevation acute coronary syndrome; PAD: peripheral artery disease; STEMI: ST-elevation myocardial infarction; sTWEAK: soluble TNF-related weak inducer of apoptosis; PCI: percutaneous coronary intervention.

and no LVH groups at univariate analysis (age, sex, eGFR, NGAL, LVEF>40%, PTH, corrected calcium, and galectin-3 plasma levels and diuretics) along with hypertension, given the relevance of this disorder in the development of LVH, were entered into a logistic regression analysis. Of these variables,

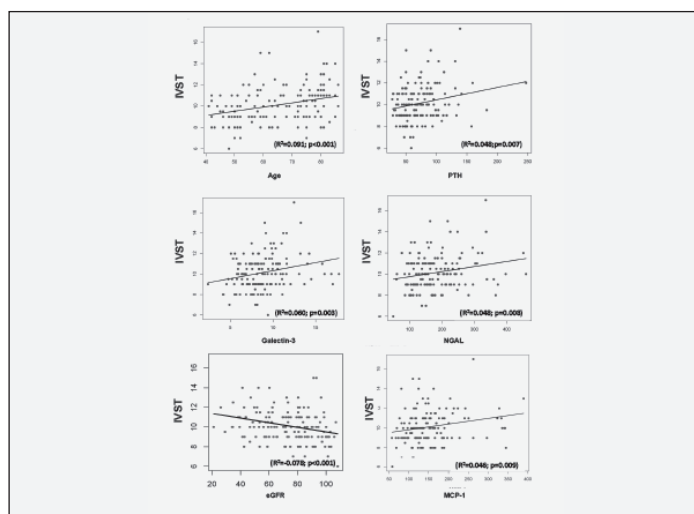
only age [Odds Ratio=1.055 (1.013-1.099); p=0.011], PTH plasma levels [Odds Ratio=1.017 (1.003-1.032); p=0.021] and LVEF>40% [Odds Ratio=7.700 (1.469-40.352); p=0.016], were independent predictors of LVH. These results did not change when FGF-23 plasma levels and the existence of

# PARATHORMONE LEVELS ARE INDEPENDENTLY ASSOCIATED WITH THE PRESENCE OF LEFT VENTRICULAR

controlled versus uncontrolled hypertension were entered along with all the other variables.

**Figure 1**

Linear regression analysis showing the relationship between interventricular septum thickness (IVST) with age, estimated glomerular filtration rate (eGFR), and parathormone (PTH), neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL), galectin-3 and monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) plasma levels



There was a statistically significant correlation between IVST and age ( $r=0.302$ ;  $p<0.001$ ), PTH ( $r=0.220$ ;  $p=0.007$ ), NGAL ( $r=0.219$ ;  $p=0.008$ ), Galectin-3 ( $r=0.245$ ;  $p=0.003$ ), and MCP-1 ( $r=0.021$ ;  $p=0.009$ ) plasma levels (Figure 1). FGF-23 ( $r=0.067$ ;  $p=0.425$ ) did not correlate with IVST. PTH plasma levels correlated inversely with calcidiol plasma levels ( $r=-0.390$ ;  $p<0.001$ ), but showed not significant correlations with phosphate levels ( $r=-0.126$ ;  $p=0.133$ ).

We divided the population in three subgroups according to calcidiol plasma levels. There were 50 patients with calcidiol  $<15$  ng/ml, 80 with 15-30 ng/ml and 16 with  $>30$  ng/ml. LVH was present in 13 patients with calcidiol  $<15$  ng/ml, in 16 with calcidiol 15-30 ng/ml and in none of patients with calcidiol  $>30$  ng/ml. In the subgroup of patients with calcidiol  $<15$  ng/ml there were no differences in any of the variables studied between those with and without LVH. In the subgroup with calcidiol 15-30 pg/mL, patients with LVH had higher PTH plasma levels ( $78.1\pm30.1$  vs  $62.2\pm21.7$  pg/mL;  $p=0.018$ ) and lower eGFR ( $64.0\pm19.3$  vs  $78.9\pm20.1$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>).

The population was also divided in two groups according to their eGFR. Forty-one patients had eGFR  $<60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> and 105 presented an eGFR  $\geq 60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. As compared with patients with eGFR  $<60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>, those with eGFR  $\geq 60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> were younger ( $61.7\pm12.6$  vs  $76.4\pm6.3$  years;  $p<0.001$ ), and had lower FGF-23 [ $65.2$  (48.9-83.7) vs  $84.1$  (61.9-126.0) RU/ml;  $p=0.001$ ], high-

sensitivity C-reactive protein [ $1.42$  (0.73-3.11) vs  $2.84$  (1.13-6.62) mg/L;  $p=0.005$ ], PTH ( $67.63\pm25.85$  vs  $89.60\pm42.78$  pg/mL;  $p=0.003$ ), MCP-1 ( $145.75\pm60.77$  vs  $170.84\pm66.75$  pg/mL;  $p=0.031$ ), NGAL ( $158.48\pm56.66$  vs  $237.91\pm93.16$  ng/mL;  $p<0.001$ ) and Galectin-3 ( $8.10\pm2.13$  vs  $10.55\pm3.08$  ng/mL;  $p<0.001$ ) plasma levels.

In the subgroup of participants with eGFR  $\geq 60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>, those with LVH ( $n=17$ ) were older ( $67.2\pm10.1$  vs  $60.6\pm12.8$  years;  $p=0.048$ ) and had higher PTH ( $86.31\pm31.12$  vs  $64.02\pm23.22$  pg/mL;  $p=0.010$ ) plasma levels than those without LVH ( $N=88$ ). There were no differences in the other variables studied. Age, PTH plasma levels, sex and hypertension were entered into a logistic regression analysis. Only PTH plasma levels [Odds Ratio=1.031 (1.011-1.053);  $p=0.003$ ] were an independent predictor of LVH. These results did not change when FGF-23 plasma levels were entered along with all the other variables. No analyses were performed in the subgroup of participants with eGFR  $<60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>, due to the low sample size, with only 12 cases with LVH and 29 without it.

## Discussion

Abnormalities of mineral metabolism are related with cardiovascular disorders. Several studies including patients with and without cardiovascular disease, and even healthy subjects, have shown an inverse association between 25-hydroxyvitamin D plasma levels and the development of cardiovascular events (17-21). Similar data have been found for PTH, FGF-23, and phosphate levels (7, 10, 17, 18, 22-24). Furthermore, abnormalities of vitamin D and/or FGF-23 plasma levels are not restricted to patients with renal disease, as they are present in more than 50% of patients with SCAD (25).

In addition to their effects on endothelial function, arterial stiffness, or smooth muscle cell proliferation (26), abnormalities in plasma levels of the components of mineral metabolism have been related with the development of LVH (6). FGF-23, a phosphaturic hormone that gradually rises in chronic kidney disease to prevent hyperphosphatemia, is also a potent inhibitor of PTH secretion and reduces vitamin D levels through decreased production and enhanced catabolism (27). It has been related with LVH in patients with chronic kidney disease (28-29). However, these findings have been inconsistent in patients with normal eGFR and SCAD (30). In our study, FGF-23 plasma levels were higher in patients with eGFR  $<60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. However, FGF-23 plasma levels did not correlate with IVST and were not significantly different between patients with and without LVH. These findings were similar when the analysis was repeated in the subgroup of patients with eGFR  $>60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. This could be due to a protective effect of normal levels of klotho, a co-receptor for FGF-23 that has been said to protect against renal damage, vascular calcification, cardiac hypertrophy, and fibrosis (31). Similarly, we found no relationship between the existence



of LVH and calcidiol plasma levels. This was in accordance with previous findings from the literature, that do not show a consistent relationship between LVH and vitamin D plasma levels (13, 32, 33).

Increased PTH plasma levels have been related with increased left ventricular mass in patients with low kidney function (3). The ICELAND-MI study found also recently a positive association between PTH plasma levels and left ventricular mass in an older-age community-dwelling cohort (13). Moreover, parathyroidectomy has been shown to be associated with regression of LVH in primary hyperparathyroidism (34). However, to our knowledge, this association has not been reported in patients with SCAD. In the present study, PTH levels were positively associated with IVST in patients with SCAD and average eGFR. In addition, plasma PTH concentration was independently associated with LVH, along with age and LVEF > 40%. These results persisted when we repeated the analysis only in patients with eGFR > 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. Of interest, a complete set of clinical variables was investigated, including therapy with antihypertensive drugs that could affect IVST.

There are potential mechanisms by which high PTH could harm the cardiac system. First, cardiac PTH receptors have been demonstrated to exert a trophic effect on cardiomyocytes (9). In addition, PTH activates the protein kinase C pathway, which could lead to hypertrophy and expression of fetal-type proteins in cardiomyocytes (9). These effects of PTH might contribute to biochemical changes and increased left ventricular mass, leading to heart failure (2,6,35). Serum PTH excess may represent an inadequate biologic vitamin D activity because it responds to calcidiol, the activated form of vitamin D (36). Possibly as a feed-back mechanism, PTH enhances calcidiol production by the kidneys (37). Also, enhanced phosphate overload may lead to increased PTH levels (24). In this regard, in our series, PTH plasma levels correlated inversely with calcidiol levels, but showed no relationship with phosphate levels. In the PRIMO trial, paricalcitol, an activator of vitamin D receptors, failed to reduce left ventricular mass in patients with chronic kidney disease, although paricalcitol intake was associated with a decrease in brain natriuretic peptide plasma levels and with fewer hospitalizations for congestive heart failure (38). Nevertheless, this compound might have additional actions than merely lowering PTH plasma levels, and it cannot be inferred from these results that PTH is not related to LVH.

Inflammatory markers have been shown to have prognostic value in cardiovascular disorders. In addition, a relationship has been found between them and LVH. In the literature there is information showing a positive relationship between high-sensitivity C-reactive protein and LVH in both patients with primary hypertension and hemodialysis (39, 40). In our study, plasma levels of this protein were similar in both groups. However, galectin-3 and NGAL plasma levels were higher in LVH than in non-LVH patients. In multivariable logistic regression analysis, the relations of NGAL and galectin-3

were no longer statistically significant. This suggests that the relations of these biomarkers with LV geometry may be mediated via other clinical covariates in the model. In this sense, to our knowledge, this is the first study that explores the influence of all the components of the mineral metabolism system along with a complete panel of biomarkers related to inflammation and renal function on the existence of LVH.

The main limitation of this study is the definition of LVH based solely on IVST as, theoretically, LVH could have gone undetected in patients with hypertrophy limited to the lateral left ventricular wall. However, this kind of hypertrophy is typical of patients with cardiomyopathy, who were excluded from this study. It is true that LVH secondary to risk factors may display not only a concentric pattern, but also an asymmetric one. However, the accepted definition of asymmetric LVH requires normal posterior wall thickness (16), implying that all patients with LVH have an increased IVST and that this measurement is valid to detect LVH. Assessing plasma levels of klotho would have been of interest, as normal plasma levels of this protein in this population with normal renal function could be a potential explanation for the lack of relevance of FGF-23 levels on the existence of LVH. This point should be considered in future papers on this topic.

## Conclusions

In patients with SCAD, elevated PTH levels are independently associated with the presence of LVH. Although plasma levels of some inflammatory markers were increased in this condition, this association was no longer evident after controlling for PTH levels. Further studies are needed to elucidate the role of disorders of mineral metabolism in the development of LVH.

**Acknowledgements:** This work was supported by grants from Fondo de Investigaciones Sanitarias (PI05/0451, PI05/1497, PI05/52475, PI05/1043, PS09/01405, PI10/00072, and PI14/01567), Spanish Society of Cardiology, Spanish Heart Foundation, Spanish Society of Arteriosclerosis, RECAVA (RD06/0014/0035), Fundación Lilly, Biobank grants from Instituto de Salud Carlos III FEDER, RD09/0076/00101 (FJD Biobank) and Abbvie Laboratories. We acknowledge Oliver Shaw (IIS-FJD, Madrid, Spain) for his assistance in editing this work.

**Conflict of Interest:** Dr. Egido has been lecturer for Abbvie Spain. The remaining authors have no conflicts of interest.

**Ethical standards:** The authors have declared that no competing interests exist.

## References

1. Levy D, Garrison RJ, Savage DD, Kannel WB, Castelli WP (1990) Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham heart study. *N Engl J Med* 322:1561-1566.
2. Kestenbaum B, Katz R, de Boer I, et al (2011) Vitamin D, parathyroid hormone, and cardiovascular events among older adults. *J Am Coll Cardiol* 58:1433-1441.
3. van Ballegooijen AJ, Snijder MB, Visser M et al (2012) Vitamin D in relation to myocardial structure and function after eight years of follow-up: the Hoorn study. *Ann Nutr Metab* 60:69-77.
4. Taylor EN, Curhan GC, Forman JP (2008) Parathyroid hormone and the risk of incident hypertension. *J Hypertens* 26:1390-1394.
5. Anderson JL, Vanwoerkom RC, Horne BD, et al (2011) Parathyroid hormone, vitamin D, renal dysfunction, and cardiovascular disease: dependent or independent risk factors?. *Am Heart J* 162:331-339.

# PARATHORMONE LEVELS ARE INDEPENDENTLY ASSOCIATED WITH THE PRESENCE OF LEFT VENTRICULAR

6. Saleh FN, Schirmer H, Sundsfjord J, Jorde R (2003) Parathyroid hormone and left ventricular hypertrophy. *Eur Heart J* 24:2054–2060.
7. Hagström E, Hellman P, Larsson TE et al (2009) Plasma parathyroid hormone and the risk of cardiovascular mortality in the community. *Circulation* 119:2765–2771.
8. Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL et al (2008) Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation* 117:503–511.
9. Tastan I, Schreckenberger R, Mufti S, Abdallah Y, Piper HM, Schluter KD (2009) Parathyroid hormone improves contractile performance of adult rat ventricular cardiomyocytes at low concentrations in a non-acute way. *Cardiovasc Res* 82:77–83.
10. Tuñón J, Cristóbal C, Tarín N et al (2014) Coexistence of low vitamin D and high fibroblast growth factor-23 plasma levels predicts an adverse outcome in patients with coronary artery disease. *PLoS One* 18:e95402.
11. Jovanovich A, Ix JH, Gottdiener J et al (2013) Fibroblast growth factor 23, left ventricular mass, and left ventricular hypertrophy in community-dwelling older adults. *Atherosclerosis* 231:114–119.
12. Faul C, Amaral AP, Oskouei B, et al (2011) FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest* 21:4393–4408.
13. van Ballegooijen AJ, Visser M, Cotch MF et al (2013) Serum vitamin D and parathyroid hormone in relation to cardiac structure and function: the ICELAND-MI substudy of AGES-Reykjavik. *J Clin Endocrinol Metab* 98:2544–2552.
14. Velagaleti RS, Gona P, Levy D et al (2008) Relations of biomarkers representing distinct biological pathways to left ventricular geometry. *Circulation* 118:2252–2558.
15. Tuñón J, Blanco-Colio L, Cristóbal C et al (2014) Usefulness of a combination of monocyte chemoattractant protein-1, galectin-3, and N-terminal probrain natriuretic peptide to predict cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Am J Cardiol* 113:434–440.
16. Lang RM, Bierig M, Devereux RB et al (2005) Chamber Quantification Writing Group; American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee; European Association of Echocardiography. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr* 18:1440–1463.
17. Wang L, Song Y, Manson JE et al (2012) Circulating 25-hydroxy-vitamin D and risk of cardiovascular disease: a meta-analysis of prospective studies. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 5:819–829.
18. Grandi NC, Breitling LP, Brenner H (2010) Vitamin D and cardiovascular disease: systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Prev Med* 51:228–233.
19. Brøndum-Jacobsen P, Benn M, Jensen GB, Nordestgaard BG (2012) 25-hydroxyvitamin D levels and risk of ischemic heart disease, myocardial infarction, and early death: population-based study and meta-analyses of 18 and 17 studies. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 32:2794–2802.
20. Karakas M, Thorand B, Zierer A, et al (2013) Low levels of serum 25-hydroxyvitamin D are associated with increased risk of myocardial infarction, especially in women: results from the MONICA/KORA Augsburg case-cohort study. *J Clin Endocrinol Metab* 98:272–280.
21. Siasos G, Tousoulis D, Oikonomou E, et al (2013) Vitamin D serum levels are associated with cardiovascular outcome in coronary artery disease. *Int J Cardiol* 168:4445–4447.
22. Palmer SC, Hayen A, Macaskill P, et al (2011) Serum levels of phosphorus, parathyroid hormone, and calcium and risks of death and cardiovascular disease in individuals with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 305:1119–1127.
23. van Ballegooijen AJ, Reinders I, Visser M, Brouwer IA (2013) Parathyroid hormone and cardiovascular disease events: A systematic review and meta-analysis of prospective studies. *Am Heart J* 165:655–664.
24. Ketteler M, Wolf M, Hahn K, Ritz E (2013) Phosphate: a novel cardiovascular risk factor. *Eur Heart J* 34:1099–1101.
25. Tuñón Fernández J, Aceña A, Tarín N, et al (2014) Abnormalities of mineral metabolism: prevalence in coronary artery disease and relationship with plasma biomarkers and lipid levels. *Eur Heart J* 35(Abstr Suppl):652.
26. Watson KE, Abrolat ML, Malone LL, et al (1997) Active serum vitamin D levels are inversely correlated with coronary calcification. *Circulation* 96:1755–1760.
27. Wolf M (2010) Forging forward with 10 burning questions on FGF23 in kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 21:1427–1435.
28. Taylor EN, Rimm EB, Stampfer MJ, Curhan GC (2011) Plasma fibroblast growth factor 23, parathyroid hormone, phosphorus, and risk of coronary heart disease. *Am Heart J* 161:956–62.
29. Gutiérrez OM, Januzzi JL, Isakova T, et al (2009) Fibroblast growth factor 23 and left ventricular hypertrophy in chronic kidney disease. *Circulation* 119:2545–2552.
30. Agarwal I, Ide N, Ix JH, et al (2014) Fibroblast growth factor-23 and cardiac structure and function. *J Am Heart Assoc* 13:e000584.
31. Hu MC, Kuro-o M, Moe OW (2013) Renal and extrarenal actions of Klotho. *Semin Nephrol* 33:118–129.
32. Tomaschitz A, Pilz S, Ritz E, et al (2010) Independent association between 1,25-dihydroxyvitamin D, 25-hydroxyvitamin D and the renin-angiotensin system: the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) study. *Clin Chim Acta* 411:1354–1360.
33. Ameri P, Canepa M, Milaneschi Y, et al (2013) Relationship between vitamin D status and left ventricular geometry in a healthy population: results from the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *J Intern Med* 273:253–262.
34. Agarwal G, Nanda G, Kapoor A, et al (2013) Cardiovascular dysfunction in symptomatic primary hyperparathyroidism and its reversal after curative parathyroidectomy: results of a prospective case control study. *Surgery* 154:1394–1403.
35. Hagström E, Ingelsson E, Sundström J et al (2010) Plasma parathyroid hormone and risk of congestive heart failure in the community. *Eur J Heart Fail* 12:1186–1192.
36. Levin A, Bakris GL, Molitch M, et al (2007) Prevalence of abnormal serum vitamin D, PTH, calcium, and phosphorus in patients with chronic kidney disease: results of the study to evaluate early kidney disease. *Kidney Int* 71:31–38.
37. van Ballegooijen AJ, Visser M, Kestenbaum B, et al (2013) Relation of vitamin D and parathyroid hormone to cardiac biomarkers and to left ventricular mass (from the Cardiovascular Health Study). *Am J Cardiol* 111:418–424.
38. Thadhani R, Appelbaum E, Pritchett Y et al (2012) Vitamin D therapy and cardiac structure and function in patients with chronic kidney disease: the PRIMO randomized controlled trial. *JAMA* 307:674–684.
39. Ratto E, Leoncini G, Viazzi F, et al (2007) C-reactive protein and target organ damage in untreated patients with primary hypertension. *J Am Soc Hypertens* 1:407–413.
40. Monfared A, Salari A, Kazemnezhad E, et al (2013) Association of left ventricular hypertrophy with high-sensitive C-reactive protein in hemodialysis patients. *Int Urol Nephrol* 45:1679–1686.

## P802 BEDSIDE

*Association of increased serum glycated albumin levels with poor coronary collaterals in diabetic patients with stable angina and chronic total occlusion*

Y. Shen, W.F. Shen, F.H. Ding, Q. Zhang, L. Lu, R.Y. Zhang. *Rui Jin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Cardiology, Shanghai, China, People's Republic of*

**Purpose:** We investigated whether serum glycated albumin (GA) levels are related to coronary collateralization in type 2 diabetic patients with chronic total occlusion.

**Methods:** Blood levels of GA and glycosylated hemoglobin (HbA1c) were determined in 317 diabetic and 117 nondiabetic patients with stable angina and angiographic total occlusion of at least one major coronary artery.

The degree of collaterals supplying the distal aspect of a total occlusion from the contralateral vessel were graded as low (Rentrop score of 0 or 1) or high collateralization (Rentrop score of 2 or 3).

**Results:** For diabetic patients, GA (21.2–6.5% vs. 18.7–5.6%,  $P = 0.001$ ) but not HbA1c levels (7.0–1.1% vs. 6.8–1.3%,  $P = 0.27$ ) were significantly elevated in low collateralization than in high collateralization group, and correlated inversely with Rentrop score (Spearman's  $r = -0.28$ ,  $P = 0.001$ ; Spearman's  $r = -0.10$ ,  $P = 0.09$ , respectively).

There was a trend towards a larger area under the curve of GA compared with that of HbA1c for detecting the presence of low collateralization (0.64 vs. 0.58,  $P = 0.15$ ).

In non-diabetic patients, both GA and HbA1c levels did not significantly differ regardless the status of coronary collateralization.

In multivariable analysis, female gender, age 65 years, smoke, non-hypertension, duration of diabetes 10 years, metabolic syndrome, eGFR 90 ml/min/1.73m<sup>2</sup>, and GA 18.3% were independently determinants for low collateralization in diabetic patients.

**Conclusions:** Increased GA levels in serum are associated with impaired collateral growth in type 2 diabetic patients with stable angina and chronic total occlusion.

## P803 BEDSIDE

*Plasma levels of fibroblast growth-23 predict adverse outcome in patients with coronary artery disease and diabetes*

J. Tunon Fernandez<sup>1</sup>, B. Fernandez-Fernandez<sup>1</sup>, N. Tarin<sup>2</sup>, C. Cristobal<sup>3</sup>, A. Acena<sup>1</sup>, A.M. Pello<sup>1</sup>, R. Carda<sup>1</sup>, A. Huelmos<sup>1</sup>, J. Farre<sup>1</sup>, J. Egido<sup>1</sup> on behalf of Biomarkers in Acute Coronary Syndrome & Biomarkers in Acute Myocardial Infarction. <sup>1</sup> Foundation Jimenez Diaz, Madrid, Spain <sup>2</sup> Hospital Universitario de Mostoles, Mostoles, Spain <sup>3</sup> University Hospital of Fuenlabrada, Fuenlabrada, Spain

**Purpose:** Abnormalities in Phosphate (P), Parathormone (PTH), 25 OH vitamin D, and Fibroblast Growth Factor-23 (FGF-23) plasma levels have been related with cardiovascular prognosis. Data on the influence of Diabetes Mellitus (DM) on the prognostic power of these parameters are sparse.

**Methods:** We studied 704 patients (pts.) with coronary artery disease (CAD) that suffered an acute coronary event 6–12 months before. Calcidiol (vitamin D metabolite), FGF-23, P, and PTH plasma levels were assessed at baseline. The outcome was the development of an acute thrombotic event (any acute coronary syndrome, stroke or transient ischemic attack), heart failure, or death.

**Results:** 172 (24%) pts. had DM. Age (62.8–11.6 vs 61.0–12.5 years;  $p = 0.089$ ) and sex (75.6 vs. 75.2% men;  $p = 0.998$ ) were similar in DM vs non-DM pts, but hypertension, dyslipidemia, use of nitrates, diuretics and antidiabetic drugs, were more frequent in DM pts. Triglyceride levels (119.0 [92.0, 167.0] vs. 107.5 [80.0, 149.2] mg/dl;  $p = 0.006$ ), were higher, but LDL (78.7–23.3 vs. 84.6–26.3 mg/dl;  $p = 0.009$ ) and HDL levels (40.8–9.5 vs 44.8–11.1 mg/dl;  $p = 0.001$ ) were lower in DM pts. There were no differences in smoking, ejection fraction 40%, glomerular filtration rate, or use of other therapies. DM pts. had more diseased vessels (1.55–0.88 vs. 1.31–0.77;  $p = 0.002$ ), and received drug-eluting stents more often (62.2 vs 41.4%;  $p = 0.001$ ) at the previous coronary event. However, complete revascularization was achieved less often in this group (54.1 vs. 70.8%;  $p = 0.001$ ). PTH plasma levels were lower (53.4 [41.2, 71.3] vs 61.5 [47.4, 80.5] pg/ml;  $p = 0.047$ ), in DM vs. non-DM pts., with no differences in P, calcidiol, and FGF-23 levels.

During follow-up (2.15–0.99 years), 26 (15.2%), and 51 pts. (9.6%) developed the outcome in the DM and non-DM groups, respectively ( $p = 0.048$ ). In DM pts., FGF-23 (112.0 [59.9, 167.6] vs 68.9 [54.2, 93.0] RU/ml;  $p = 0.002$ ), PTH (71.3 [47.3, 106.6] vs 51.9 [40.8, 66.2] pg/ml;  $p = 0.004$ ) and P (3.53–0.71 vs. 3.25–0.50 mg/dl;  $p = 0.017$ ) levels were higher in pts. who developed the outcome. These differences were not significant in non-DM pts. In DM pts., FGF-23 was an independent predictor of the outcome (hazard ratio 1.024 [confidence interval 1.012–1.036];  $p = 0.002$ ), along with age, HDL, and use of anticoagulants and inhibitors of the renin-angiotensin system (Cox regression analysis). Oppositely, FGF-23 levels did not predict the outcome in non-DM patients.

**Conclusions:** In CAD pts., FGF-23 plasma levels predict adverse outcomes in the presence, but not in the absence, of DM. The relationship between DM and FGF-23 deserves further study.

## P804 BEDSIDE

*Endothelial dysfunction, oxidative stress and inflammation in patients with acute myocardial infarction and abnormal glucose tolerance*

L. David, A. Grosu, A. Raducan. *Institute of Cardiology, Chisinau, Moldova, Republic of*

Abnormal glucose tolerance is known to be associated with a poor prognosis in patients (pts) with acute myocardial infarction (AMI). Endothelial dysfunction has a multifactorial mechanism and has been shown to be predictive of cardiovascular events. We aimed to study biomarkers of endothelial function, oxidative stress and inflammation in patients with AMI and abnormal glucose tolerance.

**Methods:** In 83 patients with AMI (mean age 58.4–1.5 years, 78% men) classified by an oral glucose tolerance test performed before discharge (overall day 10) into normal glucose tolerance (NGT,  $n = 30$ ), impaired glucose tolerance (IGT,  $n = 37$ ) and diabetes (DM,  $n = 25$ ) we determined plasma levels of malondialdehyde (MDA), a marker of oxidative status, asymmetric dimethylarginine (ADMA), inhibitor of nitric oxide synthase, hs-CRP, indicator of inflammation and evaluated endothelial function with flow-mediated dilatation of the brachial artery (FMD).

**Results:** No difference between groups in patients demographic and baseline clinical characteristics as well as in AMI size and location were observed. Plasma levels of MDA ( $p = 0.05$ ,  $p = 0.001$ ), ADMA ( $p = 0.001$  for both) and hs-CRP ( $p = 0.001$  for both) were significantly higher in pts with IGT and DM compared to those with NGT, respectively. The rate of vasodilatation measured by FMD decreased across the spectrum of glucometabolic disturbances and was significantly lower in subjects with IGT ( $p = 0.001$ ) and DM ( $p = 0.001$ ) compared to NGT. In the study group ADMA correlated with hs-CRP ( $r = 0.59$ ,  $p = 0.001$ ), with MDA ( $r = 0.52$ ,  $p = 0.01$ ) and 2h post load glucose level ( $r = 0.56$ ,  $p = 0.001$ ). FMD was negatively related to ADMA ( $r = -0.61$ ,  $p = 0.001$ ), to hs-CRP ( $r = -0.69$ ,  $p = 0.001$ ), to MDA ( $r = -0.49$ ,  $p = 0.01$ ) as well as to 2h post load glucose level ( $r = -0.68$ ,  $p = 0.001$ ).

**Conclusion:** These data suggests that endothelial dysfunction in AMI patients with abnormal glucose tolerance is related to impaired bioavailability of nitric oxide mediated by oxidative stress and inflammation and is correlated with the degree of glucometabolic disturbances.

## P805 BEDSIDE

*Admission hyperglycemia improves the GRACE risk score for prediction of in-hospital mortality. Insights from the Euro Heart Survey ACS III*

F. Schiele<sup>1</sup>, H. Bueno<sup>2</sup>, M. Hochadel<sup>3</sup>, M. Tubaro<sup>4</sup>, N. Meneveau<sup>1</sup>, W. Wojakowski<sup>5</sup>, M. Gierlotka<sup>6</sup>, J.P. Bassand<sup>7</sup>, K.A.A. Fox<sup>7</sup>, A.K. Gitt<sup>3</sup>. <sup>1</sup>University Hospital of Besancon, Besancon, France <sup>2</sup>University Hospital Gregorio Marañon, Madrid, Spain <sup>3</sup>Heart Attack Research Center, Ludwigshafen am Rhein, Germany <sup>4</sup>San Filippo Neri Hospital, Rome, Italy <sup>5</sup>Medical University of Silesia, 3rd Division of Cardiology, Katowice, Poland <sup>6</sup>Silesian Center for Heart Diseases (SCHD), Zabrze, Poland <sup>7</sup>Royal Infirmary of Edinburgh, Edinburgh, United Kingdom

**Background:** Stress hyperglycemia is associated with higher mortality. Using data from Euro Heart Survey Acute Coronary Syndromes (ACS) III, we determined the incremental prognostic value of adding admission hyperglycemia (AH) on top of the GRACE risk score.

**Methods:** AH was defined as plasma glucose 140 mg/dL, irrespective of diabetic status. Prediction models for mortality were compared (AH alone vs GRACE score plus AH) by changes in the C-index. Discriminatory capacity of the 2 models was compared using the Integrated Discrimination Improvement (IDI) and Hosmer-Lemeshow (HL) tests. We report appropriateness of reclassification using the Net Reclassification Index (NRI). Reclassification was considered as appropriate when the "new" risk prediction was more accurate than GRACE alone. Similar tests were repeated (1) in selected subgroups (diabetics, elderly, STEMI, women, patients with GRACE score 140), and (2) with different thresholds for AH definition (from 120 to 200 mg/dL).

**Results:** Among 21872 patients included in the Euro Heart Survey-ACS III, GRACE risk score and AH were available in 16896 (73%), in-hospital mortality was 4.3%. AH was observed in 37% of the patients. Improvement in C-statistic was significant when AH was added to GRACE score (0.8405 vs 0.8312,  $p = 0.0001$ ), relative IDI was also significant ( $p = 0.03$ ). NRI showed that AH added to GRACE allowed correct reclassification of 31% of those who died and 30% of survivors ( $p = 0.0001$ ). Incremental prognostic value was more pronounced in high risk subgroups (elderly, STEMI, GRACE score 140), but not in diabetics. Changes in threshold value to define AH did not yield to better improvement in risk assessment.

**Conclusions:** AH is associated with higher mortality in patients with acute coronary syndromes. Added to the GRACE score, AH allows better prognostication of in-hospital death.



## STABLE CORONARY ARTERY DISEASE

## P3588 BEDSIDE

**Divergent effects of C338A polymorphism of endothelin-1 converting enzyme gene, on endothelin-1 levels in healthy subjects and in subjects with coronary artery disease**

E. Toli, D. Tousoulis, C. Antoniadou, A. Milou, G. Hatzis, N. Papageorgiou, L. Kormali, E. Oikonomou, E. Tsamis, C. Stefanadis. *University of Athens Medical School, 1st Cardiology Department, "Hippokraton" Hospital, Athens, Greece*

**Purpose:** Endothelin-1 (ET-1) is strongly implicated into the pathophysiology of atherosclerosis and of ischemic heart disease. Although a number of genetic polymorphisms have been identified in ET-1 gene, their effects on the expression of ET-1 and its circulating levels are unclear. We examined the effect of C338A polymorphism of endothelin-1 converting enzyme gene (ECE-1b C338A) on ET-1 levels in coronary artery disease (CAD) patients and control subjects.

**Methods:** The study population consisted of 157 (mean age 61 ± 10 years) consecutive subjects with angiographically documented stable CAD and 160 (mean age 60 ± 10 years) control subjects. Plasma levels of ET-1 were measured by ELISA, while the presence of ECE-1b C338A polymorphism was determined by PCR.

**Results:** Between CAD and control subjects there was no difference in age while the prevalence of male gender was higher among CAD subjects (78% vs. 58%,  $p < 0.001$ ). Subjects with CAD had also significantly elevated levels of ET-1 compared to control subjects (2.38 ± 2.54 fmol/ml vs. 1.24 ± 1.25 fmol/ml,  $p < 0.001$ ) even after adjustment for gender. However, there was no significant difference in the distribution of ECE-1b C338A polymorphism between CAD (CC: 88%, CA: 8%, AA: 5%) and control subjects (CC: 87%, CA: 7%, AA: 6%), ( $p = 0.3$ ). Interestingly, in CAD subjects the presence of A allele on ECE-1b C338A polymorphism was associated with significantly increased levels of ET-1 (5.43 ± 1.95 fmol/ml vs. 1.99 ± 2.33 fmol/ml,  $p < 0.001$ ) while in control subjects the presence of A allele on ECE-1b C338A polymorphism had no impact on ET-1 levels (1.40 ± 1.18 fmol/ml vs. 1.22 ± 1.26 fmol/ml,  $p = 0.4$ ).

**Conclusions:** The presence of A allele on ECE-1b C338A polymorphism is associated with significantly higher levels of ET-1 in CAD patients. These findings may partially explain the difference observed in ET-1 levels between control subjects and CAD patients and provide further insights into the pathophysiology of atherosclerosis and of ischemic heart disease.

## P3589 BEDSIDE

**Abnormalities of mineral metabolism: prevalence in coronary artery disease and relationship with plasma biomarkers and lipid levels**

J. Tunon Fernandez<sup>1</sup>, A. Acena<sup>1</sup>, N. Tarin<sup>2</sup>, C. Cristobal<sup>3</sup>, M.L. Gonzalez-Casaus<sup>4</sup>, A. Huertos<sup>5</sup>, J. Alonso<sup>3</sup>, C. Lorenzo<sup>1</sup>, A.M. Pello<sup>1</sup>, J. Farré<sup>1</sup> on behalf of Biomarkers in Acute Coronary Syndrome & Biomarkers in Acute Myocardial Infarction. <sup>1</sup> Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain. <sup>2</sup> Hospital Universitario de Mostoles, Mostoles, Spain. <sup>3</sup> University Hospital of Fuenlabrada, Fuenlabrada, Spain. <sup>4</sup> Hospital Central de La Defensa Gómez Ulla, Madrid, Spain. <sup>5</sup> University Hospital Alcorcón Foundation, Madrid, Spain

**Background:** Abnormalities of mineral metabolism have been related traditionally with renal disorders. However, in the recent years, it has been shown that low vitamin D plasma levels, as well as enhanced fibroblast growth factor-23 (FGF-23), parathyroid hormone (PTH) and phosphate levels are associated with an increase in the incidence of cardiovascular events. In spite of this, data on the prevalence of abnormalities in these components of mineral metabolism in patients with coronary artery disease (CAD) are sparse.

**Methods:** We assessed the prevalence of alterations of mineral metabolism (calcium, vitamin D, PTH, FGF-23, PTHrP, and phosphate plasma levels) in 704 patients with stable CAD, as well as their relationship with several biomarkers.

**Results:** Age was 61.4 ± 12.3 years and 75% of the patients were men. Estimated glomerular filtration rate was 77.7 (63.6, 89.6) mL/min/1.73 m<sup>2</sup>; in 75.7% of patients this value was < 60 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>.

Calcium levels showed severe deficiency (< 10.0 ng/mL) in 10.9% of cases, moderate deficiency (10.01-20.00 ng/mL) in 46.4%, were suboptimal (20.01-30.0 ng/mL) in 32.3%, and normal (> 30 ng/mL) in 10.4%. FGF-23 levels (59.9 (54.5, 66.3) RU/mL) were elevated (> 130 RU/mL) in 11.5% of cases. PTH levels (59.7 (45.5, 77.5) pg/mL) were increased in 30% of cases (> 74 pg/mL). Phosphate levels (8.2 (2.8, 3.5) mg/dL) were high in only 0.8% of cases (> 4.5 mg/dL).

Calcium levels showed a weak correlation with monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) ( $r = -0.085$ ,  $p = 0.024$ ) and pro-brain natriuretic peptide (pro-BNP) ( $r = -0.084$ ,  $p = 0.024$ ), but not with age, glomerular filtration rate, high-sensitivity C reactive protein (hsCRP) or galectin-3. FGF-23 displayed a mild-moderate correlation with age ( $r = 0.104$ ,  $p = 0.000$ ), glomerular filtration rate ( $r = 0.286$ ,  $p < 0.001$ ), MCP-1 (0.182,  $p < 0.001$ ), pro-BNP ( $r = 0.439$ ,  $p < 0.001$ ), hsCRP (0.127,  $p = 0.032$ ) and galectin-3 ( $r = 0.203$ ,  $p < 0.001$ ). PTH showed also a mild-moderate correlation with age (0.209,  $p < 0.001$ ), glomerular filtration rate ( $r = 0.374$ ,  $p < 0.001$ ), MCP-1 ( $r = 0.148$ ,  $p < 0.001$ ), pro-BNP ( $r = 0.255$ ,  $p < 0.001$ ) and galectin-3 ( $r = 0.171$ ,  $p < 0.001$ ) but not with hsCRP. At multiple linear regression analysis, these variables along with lipid values did not explain calcium, FGF-23 and PTH levels (adjusted R<sup>2</sup>: 0.068, 0.218, and 0.203, respectively).

**Conclusions:** Patients with CAD show a high prevalence of alterations of calcium, FGF-23 and PTH plasma levels, which may be related to an adverse outcome. These changes are not explained by age, glomerular filtration rate, inflammatory biomarkers and lipids.

## P3590 BEDSIDE

**Effectiveness of different clinical risk scores to predict different outcomes in patients with coronary artery disease**

A. Acena<sup>1</sup>, C. Cristobal<sup>2</sup>, N. Tarin<sup>3</sup>, A. Huertos<sup>4</sup>, A. Pello<sup>1</sup>, R. Carda<sup>1</sup>, I. Mahillo<sup>1</sup>, L. Lopez-Basos<sup>5</sup>, J. Farré<sup>1</sup>, J. Tunon<sup>1</sup>. <sup>1</sup> Fundación Jiménez Díaz, CARDIOLOGY, Madrid, Spain. <sup>2</sup> University Hospital of Fuenlabrada, Cardiology, Fuenlabrada, Spain. <sup>3</sup> University Hospital Mostoles, Cardiology, Mostoles, Spain. <sup>4</sup> Fundación Hospital Alcorcón, Cardiology, Alcorcón, Spain. <sup>5</sup> Rey Juan Carlos University, Medicine, Alcorcón, Spain

**Purpose:** There are not accepted prognostic risk scores for patients with stable coronary artery disease (SCAD). We have assessed the usefulness of three previously published clinical risk scores to predict different outcomes in patients with SCAD.

**Methods:** We have evaluated these clinical risk scores in 603 patients with SCAD: 1) The D'Agostino score, based on the Framingham study, which takes into account age, sex, high density lipoprotein, diabetes, smoking and blood pressure; 2) The Marshner score, from the LIPID (Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischemic Disease) study, which uses 15 variables including age, sex, cardiovascular risk factors, and cardiovascular history, among others; and 3) The simplified VILCAD (Vienna and Ludwigshafen Coronary Artery Disease) score, calculated with age, ejection fraction, creatinine levels, heart rate and hemoglobin A1c. The secondary outcomes were the incidence of acute ischemic events (any acute coronary event, stroke or transient ischemic attack), and heart failure or death. The primary outcome was the combination of secondary outcomes. A Net Reclassification Index (NRI) was calculated to assess the improvement in risk prediction gained by adding every risk score to models constructed with adjustment variables.

**Results:** Age was 61.2 ± 12.3 years and 75.1% of patients were men. Follow-up was 2.08 ± 0.57 years. Forty-two patients developed an acute ischemic event, 22 met the outcome of heart failure or death, and 60 developed the primary outcome. By Cox regression analysis, recurrence of acute ischemic events was predicted only by D'Agostino score [Hazard Ratio (HR): 1.046, confidence interval (CI) 1.012-1.082;  $p = 0.026$ ], with a NRI of 9.7% (9.6-9.8). The Marshner (HR 1.125, CI 1.04-1.217;  $p = 0.005$ ) and the VILCAD scores (HR 1.988, CI 1.430-2.670;  $p < 0.001$ ) predicted the development of heart failure or death with NRI of 5.8% (5.7-5.9) and 18.6 (18.3-18.9), respectively. The development of the combined primary outcome was predicted by Marshner (HR = 0.96, CI 1.031-1.165;  $p = 0.005$ ) and VILCAD scores (HR 1.387, CI 1.132-1.700;  $p < 0.003$ ), with NRI of 3.4% (3.3-3.5) and 19.4% (19.3-19.5), respectively.

**Conclusions:** The accuracy of different risk scores in SCAD varies according to the outcome studied. While scores assessing cardiovascular risk factors predict the recurrence of acute ischemic events, those including variables related to myocardial and renal function perform better in the prediction of heart failure and death. These findings must be taken into account when developing new prognostic scores.

## P3591 BEDSIDE

**The predictive value of high-sensitive cardiac troponin T in stable coronary artery disease depends on age and other clinical variables**

R. Carda Barric<sup>1</sup>, C. Cristobal<sup>2</sup>, N. Tarin<sup>3</sup>, A. Acena<sup>1</sup>, A.M. Pello<sup>1</sup>, A. Huertos<sup>4</sup>, O. Lorenzo<sup>1</sup>, J. Alonso<sup>3</sup>, J. Farré<sup>1</sup>, J. Tunon<sup>1</sup>. <sup>1</sup> Fundación Jiménez Díaz, Cardiology, Madrid, Spain. <sup>2</sup> Hospital de Fuenlabrada, Madrid, Spain. <sup>3</sup> Hospital de Mostoles, Madrid, Spain. <sup>4</sup> University Hospital Alcorcón Foundation, Madrid, Spain

**Purpose:** The prognostic usefulness of high-sensitive cardiac troponin T (hs-cTnT) plasma levels in patients with stable coronary artery disease (SCAD) has not been fully elucidated. We have assessed the ability of hs-cTnT to predict different outcomes in patients with SCAD.

**Methods:** We studied 706 patients with SCAD. At baseline clinical variables were recorded and hs-cTnT was determined. Secondary outcomes were the incidence of: 1) acute ischemic events (any acute coronary syndrome, stroke, or transient ischemic attack), and 2) heart failure or death. Primary outcome was the composite of secondary outcomes.

**Results:** hs-cTnT was < 0 ng/mL in 62.1% of cases, with median and maximum values of 0.008 (0.003-0.017) and 3.446 ng/mL respectively.

At univariate analysis, cases with hs-cTnT > 0 were older (64.0 (55.0-74.0) vs 56.0 (50.0-65.0) years;  $p < 0.001$ ), had lower Glomerular Filtration Rate (GFR) [74.3 (66.1-86.7) vs 81.4 (71.3-93.8) mL/min/1.73 m<sup>2</sup>], a more frequent history of hypertension (69.9 vs 57.3%;  $p < 0.001$ ), atrial fibrillation (7.1 vs 1.9%;  $p = 0.002$ ), ejection fraction < 40% (16.7 vs 3.7%;  $p < 0.001$ ), therapy with angiotensin converting enzyme inhibitors (ACEI) (58.9 vs 49.1%;  $p = 0.012$ ), diuretics (23.5 vs 13.1%;  $p < 0.001$ ) and acenocumarol (8.7 vs 1.9%;  $p < 0.001$ ) than those with hs-cTnT = 0. Follow-up was 2.2 ± 0.99 years. Fifty-three patients suffered an acute ischemic event, 33 died or suffered heart failure and 70 developed the primary outcome. By Cox regression analysis, hs-cTnT > 0 was associated with higher risk of

# American College Cardiology Congress 2014



ACC.14  
TCT@ACC.14 | innovation in intervention

A797  
JACC April 1, 2014  
Volume 63, Issue 12



## Heart Failure and Cardiomyopathies

### PARATHORMONE LEVELS ARE INDEPENDENTLY ASSOCIATED WITH THE PRESENCE OF LEFT VENTRICULAR HYPERTROPHY IN PATIENTS WITH CORONARY ARTERY DISEASE

Poster Contributions

Hall C

Saturday, March 29, 2014, 10:00 a.m.-10:45 a.m.

Session Title: Heart Failure and Cardiomyopathies: Role of Biomarkers in Heart Failure

Abstract Category: 12. Heart Failure and Cardiomyopathies: Clinical

Presentation Number: 1114-201

Authors: Alvaro Aceña, Maria Gonzalez-Casas, Luis Blanco-Colio, Jose Luis Martin Ventura, Ana Maria Pello, Rocio Carda, Julia Anna Palty, Orejas Miguel, Rosa Rabago, Emilio Gonzalez-Parra, Oscar Lorenzo, Jeronimo Farre, Jesus Egido, José Tunon, IIS-Fundacion Jimenez Diaz, Madrid, Spain

**Background:** In the last years there has been a great interest in the role of the abnormalities of mineral metabolism and inflammation in cardiovascular disease. We have assessed the relationship between left ventricular hypertrophy (LVH), inflammation and mineral metabolism.

**Methods:** LVH was measured on echocardiography in 146 outpatients with stable coronary artery disease (SCAD). Patients with a diagnosis of cardiomyopathy were excluded. Plasma was stored at -80°C. Calcidiol (a metabolite of vitamin D), parathyroid hormone (PTH) and FGF-23 (fibroblast growth factor -23) plasma levels were determined in order to study the mineral metabolism. High sensitivity C-reactive protein, MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1), galectin-3, NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin), and TWEAK (TNF-related weak inducer of apoptosis) plasma levels were studied as markers of inflammation.

**Results:** LVH, defined as septal thickness  $\geq 11$  mm, was present in 19.9% of cases. These patients were older [75.0 (61.0-81.0) vs 64.0 (51.0-76.0) years;  $p=0.002$ ], and had higher PTH [84.7 (59.6-104.7) vs 63.2 (49.2-85.2) pg/ml;  $p=0.007$ ], galectin-3 [9.6 (8.0-11.1) vs 8.3 (6.9-9.9) ng/ml;  $p=0.037$ ], and NGAL [208.5 $\pm$ 87.6 vs 173.9 $\pm$ 73.4 ng/ml;  $p=0.031$ ] plasma levels than those without LVH. Oppositely, glomerular filtration rate was lower in patients with LVH than in those without it (65.1 $\pm$ 20.0 vs 74.7 $\pm$ 19.9 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>;  $p=0.021$ ). There were no significant differences in sex (62.1 vs 65.0% men;  $p=0.83$ ) and hypertension (79.3 vs 68.4%;  $p=0.363$ ) between patients with and without LVH. Age, sex, hypertension, glomerular filtration rate, NGAL, logarithm PTH, and logarithm galectin-3 plasma levels were entered into a logistic regression analysis. Of these variables, only age [Odds Ratio 1.044 (1.004-1.085);  $p=0.031$ ] and logarithm PTH [Odds Ratio 14.787 (1.136-192.510),  $p=0.040$ ] were independent predictors of the presence of LVH.

**Conclusions:** In a population of patients with SCAD, elevated PTH levels are independently associated with the presence of LVH. Further studies are needed to elucidate the role of disorders of mineral metabolism in the development of myocardial hypertrophy.

## REVISTA ESPAÑOLA DE CARDIOLOGÍA

### 6014-198 - LOS NIVELES PLASMÁTICOS DEL FACTOR DE CRECIMIENTO DE FIBROBLASTOS-23 PREDICEN LA EVOLUCIÓN EN PACIENTES CON ENFERMEDAD CORONARIA Y DIABETES

José Tuñón Fernández<sup>1</sup>, Álvaro Aceña Navarro<sup>1</sup>, Ana María Pello Lázaro<sup>1</sup>, Rocío Carda Barrio<sup>1</sup>, Carmen Cristóbal Varela<sup>2</sup>, M. de las Nieves Tarín Vicente<sup>2</sup>, Ana Huelmos<sup>1</sup> y Jesús Egido de los Ríos<sup>1</sup> de la <sup>1</sup>Fundación Jiménez Díaz, Madrid, <sup>2</sup>Hospital Universitario de Fuenlabrada (Madrid) y <sup>3</sup>Hospital Universitario de Móstoles (Madrid).

#### Resumen

**Introducción:** Los niveles plasmáticos (NP) de fósforo (P), hormona paratiroidea (PTH), 25OH vitamina D, y factor de crecimiento de los fibroblastos-23 (FGF-23) se han relacionado con el pronóstico cardiovascular. Se desconoce la influencia de la diabetes (DM) en la capacidad pronóstica de estos marcadores.

**Métodos:** Estudiamos los NP de calcidiol (metabolito de la vitamina D), FGF-23, P, y PTH en 704 pts con enfermedad coronaria crónica (ECC) que habían tenido un SCA 6-12 meses antes. El objetivo era: desarrollo de un evento isquémico agudo (cualquier SCA o accidente cerebrovascular), insuficiencia cardiaca o muerte.

**Resultados:** 172 (24%) pts. padecían DM. La edad ( $62,8 \pm 11,6$  vs  $61,0 \pm 12,5$  años,  $p = 0,089$ ) y el sexo (75,6 vs 75,2% hombres;  $p = 0,998$ ) eran similares en pts con/sin DM, pero la presencia de HTA, dislipemia, y uso de nitratos, diuréticos y antidiabéticos, eran mayores en DM. Los NP de TG ( $119,0 [92,0, 167,0]$  vs  $107,5 [80,0, 149,2]$  mg/dl;  $p = 0,006$ ) eran superiores, pero los de LDL ( $78,7 \pm 23,3$  vs  $84,6 \pm 26,3$  mg/dl;  $p = 0,009$ ) y HDL ( $40,8 \pm 9,5$  vs  $44,8 \pm 11,1$  mg/dl;  $p < 0,001$ ) eran menores en DM. No hubo diferencias en presencia de tabaquismo, fracción de eyección  $< 40\%$ , filtrado glomerular, o uso de otros ttos. Los DM tenían más vasos enfermos ( $1,55 \pm 0,88$  vs  $1,31 \pm 0,77$ ;  $p = 0,002$ ), y recibieron más stents farmacoactivos ( $62,2$  vs  $41,4\%$ ;  $p < 0,001$ ) en el SCA previo, pero tenían menor tasa de revascularización completa ( $54,1$  vs  $70,8\%$ ;  $p < 0,001$ ). Los NP de PTH fueron menores ( $53,4 [41,2, 71,3]$  vs  $61,5 [47,4, 80,5]$  pg/ml;  $p = 0,047$ ) en DM, sin diferencias en los de P, calcidiol y FGF-23. En el seguimiento ( $2,15 \pm 0,99$  años), 26 DM (15,2%) y 51 no DM (9,6%) desarrollaron el objetivo ( $p = 0,048$ ). En DM, los NP de FGF-23 ( $112,0 [59,9, 167,6]$  vs  $68,9 [54,2, 93,0]$  RU/ml;  $p = 0,002$ ), PTH ( $71,3 [47,3, 106,6]$  vs  $51,9 [40,8, 66,2]$  pg/ml;  $p = 0,004$ ) y P ( $3,53 \pm 0,71$  vs  $3,25 \pm 0,50$  mg/dl;  $p = 0,017$ ) eran mayores en los que desarrollaron el objetivo. Estas diferencias no fueron significativas en los no DM. En DM, los NP de FGF-23 eran predictores independientes del objetivo (HR = 1,024 [IC95% = 1,012-1,036];  $p = 0,002$ ), junto a la edad, HDL, y uso de anticoagulantes e inhibidores del sistema renina-angiotensina. Por el contrario, no predecían la evolución en no DM.

**Conclusiones:** En pts con ECC, los NP de FGF-23 predicen eventos adversos en presencia, pero no en ausencia de DM. La relación entre DM y FGF-23 debe ser objeto de futuros estudios.



**UJD RA**, n76 (776), AS: 36 (857), PsA 15 (882), p038A total of 98 (624) had CA, while 59 (376) did not have CA and there was no difference between the 3 UJD groups. In logistic regression analyses CP was significantly associated with CA (Table) independent of the 3 CV risk calculators: SCORE, Framingham and Reynolds. When number of CP was added in the models (Table), this increased the associations of CP with CA.

**Conclusion:** CP was independently associated with CACP and therefore be regarded as CV disease in patients with UJD and has direct clinical implications in CV risk evaluation and prevention.

#### P2486 BEDSIDE

**Vitamin D serum levels are associated with cardiovascular outcome in coronary artery disease**

G. Siasos, D. Tousoulis, E. Oikonomou, K. Maniatis, S. Kioufis, M. Zaromitidou, Eokkou, S. Mazaris, Tonsola, C. Stefanadis  
University of Athens Medical School, Hippokraton General Hospital, Department of Cardiology, Athens, Greece

**Purpose:** The role of vitamin D in coronary artery disease is under question recently. We study the diagnostic and prognostic significance of vitamin D status in coronary artery disease (CAD) patients.

**Methods:** In this cohort study we included 252 CAD patients (mean aged 62 ± 11 years) followed-up for 3 to 36 (median 15) months. The extent of CAD (1 vessel disease (1VD), 2VD and 3VD) was determined by coronary angiography and severity of CAD was evaluated by Gensini score. Measures for vitamin D were performed using Liquid Chromatography Mass Spectrometry technology. Subjects with vitamin D levels above and below 30ng/ml were characterized as having sufficiency and deficiency respectively. The primary end point was the composite of death from cardiovascular causes, cardiovascular events and hospitalization for cardiovascular causes.

**Results:** From the study population 222 (88) were categorized as having vitamin D deficiency and 30 subjects as having vitamin D sufficiency (12%). There was no difference between subjects with deficiency and sufficiency in baseline characteristics. There was no association of Vitamin D levels with Gensini score (rho006, p036) and with the extent of CAD 1775 (1137-2353) vs 1840 (1365-2353) vs 1690 (1297-2650) ng/ml, p096, for 1VD, 2VD and 3VD respectively. During the follow up period the primary end point occurred in 24 of the subjects with vitamin D deficiency and in 7% of the subjects with vitamin D sufficiency. Cox-regression analysis after adjustment for multiple confounders such as age, gender, creatinine clearance, gensini score, the presence of dyslipidemia, arterial hypertension, diabetes mellitus, smoking habits and obesity revealed that subjects with vitamin D deficiency have seven times increased hazard (HR=7.24, p005) for the occurrence of primary end point compared to subjects with vitamin D sufficiency.

**Conclusion:** Vitamin D deficiency is highly prevalent in CAD patients. Importantly, vitamin D deficiency is associated with adverse cardiovascular outcome in this high risk population a finding that must be further evaluated by interventional studies.

#### P2487 BEDSIDE

**Family history of premature cardiovascular disease as risk factor for recurrent coronary artery disease: a retrospective cohort study**

TAMMERS<sup>1</sup>, EBARSOM<sup>2</sup>, AYADA<sup>2</sup>, SSVAPALAMNAM<sup>2</sup>, RDe Winter<sup>3</sup>, och<sup>3</sup>, JJPasteleijn<sup>2</sup>, MDTijp<sup>2</sup>, ESGSroes<sup>2</sup>, SJPinto-Sietsma<sup>2</sup>  
<sup>1</sup>Cardiovascular Research Institute Maastricht (CARIM), Maastricht, Netherlands; <sup>2</sup>Academic Medical Center, Department of Vascular Medicine, Amsterdam, Netherlands; <sup>3</sup>Academic Medical Center, University of Amsterdam, Department of Cardiology, Amsterdam, Netherlands

**Introduction:** Patients with a genetic predisposition – as identified by a positive family history – for premature coronary artery disease (CAD) differ in phenotype and risk factor load compared to those without such predisposition. However, these groups receive the same preventive medical regimen. It is unclear whether this results in an increased risk for recurrent CAD in those with a genetic predisposition to premature CAD.

**Methods:** We retrospectively investigated 2,756 patients with premature CAD (event < 51 years (men), < 56 years (women)) and assessed the number of recurrent CAD according to family history. A positive family history was defined as ≥ 1 first degree and/or ≥ 2 second degree family members with premature cardiovascular disease. Cox proportional hazard was used to estimate the relationship between a positive family history and recurrence of fatal and non-fatal CAD.

**Results:** Overall, mean age at time of first event was 44.7 ± 5.5 years, 694 were males. After a mean follow-up of 61 ± 37 years, 1,027 patients had a recurrent event. Patients with recurrent events had more often a positive family history (604 vs 467, p0005) compared to those with a negative family history. After adjustment for cardiovascular risk factors and confounders, a positive family history was independently associated with recurrent events (Hazard ratio 1.45 (95% confidence intervals (CI) 1.12-1.98; p0001).

**Conclusion:** Patients with a genetic predisposition for CAD are at risk for recurrent events, after adjusting for risk factors and medication use. Therefore, these patients might be included in current guidelines for more aggressive pharmaceutical treatment.

#### P2488 BEDSIDE

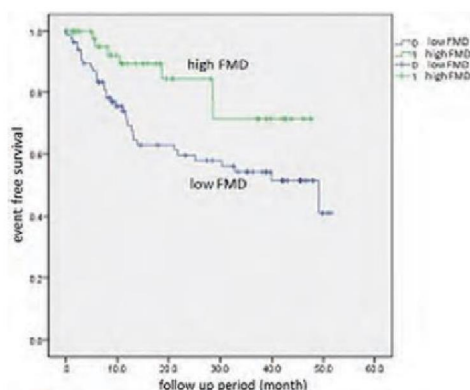
**Impaired endothelial function in the brachial artery predicts clinical poor outcome in patients with stable angina pectoris undergoing successful coronary revascularization**

Motoki<sup>1</sup>, TMiyoshi<sup>2</sup>, HOe<sup>1</sup>, Hashimoto<sup>1</sup>, SNagase<sup>1</sup>, Nakamura<sup>1</sup>, ohno<sup>1</sup>, HMorita<sup>2</sup>, usano<sup>1</sup>, Hito<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Okayama University, Department of Cardiovascular Medicine, Okayama, Japan; <sup>2</sup>Okayama University, Department of Cardiovascular Therapeutics, Okayama, Japan

**Background:** Previous studies have shown that endothelial vasomotor dysfunction is a predictor of cardiovascular events; however, in the era of drug-eluting stents, the clinical relevance of endothelial dysfunction on the outcome in patients undergoing coronary revascularization should be re-evaluated.

**Methods:** This study included 138 patients with stable coronary artery disease. The flow-mediated dilation (FMD) of the brachial artery was examined after coronary revascularization, and then optimized therapies to reduce risk factors were performed. The mean follow-up period was 20 months. The primary endpoints included cardiac death, nonfatal myocardial infarction, recurrent and refractory angina pectoris requiring coronary revascularization, or ischemic stroke. In accordance with a ROC curve analysis, patients were assigned into two groups: low FMD (< 48) or high FMD (≥ 48) group.

**Results:** There were no significant differences in age, gender, prevalence of hypertension, diabetes mellitus, and dyslipidemia between two groups. During follow-up, events occurred in 42 (304) patients. Kaplan Meier analysis showed the poor prognosis of patients in the low FMD group (p002). Cox proportional hazard analysis including age, gender, hypertension, diabetes, chronic kidney disease, heart failure and use of statin and β-blocker showed that the impaired FMD was an independent predictor of events (hazard ratio: 1.92, 95% CI: 1.21 to 3.03, p0005).



aplan-Meier analysis

**Conclusions:** The impairment of endothelial vasomotor function after coronary revascularization has an adverse impact on outcome in patients with stable coronary artery disease despite optimized therapy to reduce risk factors.

#### P2489 BEDSIDE

**Low levels of plasma vitamin d predict the development of adverse events in patients with chronic coronary artery disease and high levels of fibroblast growth factor-23**

JTunon Fernandez<sup>1</sup>, CCristobal<sup>2</sup>, NTarin<sup>3</sup>, AAacena<sup>4</sup>, MCGonzalez-Casas<sup>5</sup>, AHuelmos<sup>5</sup>, OLOrenzo<sup>4</sup>, EGonzalez-Parra<sup>4</sup>, LLOpez-Bescos<sup>6</sup>, JEGito<sup>4</sup>  
<sup>1</sup>Foundation Jimenez Diaz, Madrid; <sup>2</sup>University Hospital of Fuenlabrada, Fuenlabrada; <sup>3</sup>Hospital Universitario de Mostoles, Mostoles; <sup>4</sup>IIS-Fundacion Jimenez Diaz, Madrid; <sup>5</sup>Gomez Ulla University and Central Military Hospital, Madrid; <sup>6</sup>Rey Juan Carlos University, Alcorcon, Spain

**Purpose:** Phosphate (P), Parathyroid hormone (PTH) and low 25 OH vitamin D levels have been related to cardiovascular disorders. Fibroblast Growth Factor-23 (FGF-23) increases renal P excretion. FGF-23 plasma levels increase in early chronic kidney disease to compensate low phosphaturia and contribute to vitamin D catabolism. This factor has been related to vascular and myocardial damage. We have investigated if plasma levels of these molecules are related to the incidence of cardiovascular events in patients with Coronary Artery Disease (CAD).

**Methods:** We have followed 704 patients with chronic CAD up to 46 years. Clinical data were recorded at baseline and plasma was stored at -80°C. We assessed calcitriol (a vitamin D metabolite), FGF-23, P and PTH plasma levels at baseline. The outcome was the development of an acute thrombotic event (ST-elevation myocardial infarction, non-ST elevation acute coronary syndrome, stroke or transient ischemic attack), heart failure or death. Cox proportional risk model was used for the analysis.

**Results:** Age was 64 ± 12 years, 753 were men and Glomerular Filtration Rate (GFR) was 76.1 ± 20.5 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> at baseline (79.7 ± 60 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>). All patients had a previous history of acute coronary syndrome and a coronary angiogram had been performed in 979. During a mean follow-up of 215 ± 99 years, 77 patients developed the outcome. Calcidiol hazard ratio 0.677 (CI 0.478-0.958) p0.028 and FGF-23 hazard ratio 1.120 (CI 1.029-1.220) p0.009 plasma levels predicted independently the occurrence of the outcome, along with age, hypertension, and therapy with nitrates and proton pump inhibitors. Area Under the Curve (AUC) was 0.600 (p0.004) in receiver operating characteristic curves for calcidiol. Kaplan-Meier curves showed that time to first event was shorter in cases with calcidiol levels equal or lower than the median (190 ng/mL) (p0.021, log-rank test) than in those with values above the median. These data were stronger in cases with FGF-23 plasma levels above the median (699 RU/mL) (AUC 0.672, p 0.001 and p0.007, log-rank test), while they lost statistical significance in the subgroup with FGF-23 below or equal than the median (AUC: 0.507 p0.905 and p0.938, log-rank test). There was a significant correlation between glomerular filtration rate and both FGF-23 (r=0.270 p 0.001) and PTH (r=0.355 p 0.001). Calcidiol and P levels were not significantly correlated with GFR.

**Conclusions:** In patients with CAD and average normal GFR, low calcidiol plasma levels are independently associated to an adverse prognosis in the presence of high levels of FGF-23.

#### P2491 BEDSIDE

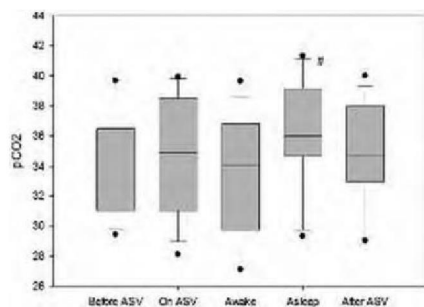
**Influence of adaptive servoventilation therapy on pCO<sub>2</sub> levels in heart failure patients with Cheyne-Stokes respiration and healthy volunteers**

J. Spiesshoefer, J. Heinrich, R. Lehmann, C. Eiken, T. Bitter, Boerber, H. Fox, D. Horstmann, O. Kleinburg. Dept. of Cardiology, Heart and Diabetes Centre North Rhine-Westphalia, Ruhr University Bochum, Bad Oeynhausen, Germany

**Purpose:** Cheyne-Stokes respiration (CSR) in heart failure (HF) patients is characterized by chronic hyperventilation and low-normal to depressed pCO<sub>2</sub> levels. Adaptive servoventilation therapy (ASV) was introduced to stabilize respiration in these patients. This study aimed to investigate acute effects of ASV on pCO<sub>2</sub> and oxygen saturation (SaO<sub>2</sub>) in HF patients with CSR and healthy volunteers, respectively.

**Methods:** HF patients (EF ≤ 50, NYHA ≥ II) with CSR (apnea-hypopnea index, AHI ≥ 15/h) and healthy volunteers were ventilated using a new ASV device (PaceWise, ResMed) for 1h pCO<sub>2</sub> and SaO<sub>2</sub> were assessed transcutaneously, while vigilance was analyzed using EEG recordings. Results were obtained during ASV ventilation while awake and asleep and compared to those being obtained 30 minutes before and after ventilation.

**Results:** A total of 20 HF patients (19 male, 79 ± 12 years, EF 36 ± 8, AHI 36 ± 14, mean expiratory airway pressure EPAP: 8.9 ± 0.5 cmH<sub>2</sub>O, mean inspiratory airway pressure IPAP: 17.1 ± 0.5 cmH<sub>2</sub>O) and 15 healthy volunteers (13 male, 25 ± 4 years, EPAP 8.4 ± 1.8, mean IPAP 14.5 ± 2.4) were included. Figure 1 shows the significant and favorable increase in pCO<sub>2</sub> to mid-normal values in ASV treated HF patients while being asleep. Similar results were obtained for healthy volunteers. p < 0.01 for asleep vs before ASV, after ASV or awake.



**Conclusion:** ASV therapy leads to a favorable increase in pCO<sub>2</sub> in sleeping subjects, whereas they face hyperventilation being awake. This increase in pCO<sub>2</sub> is very favorable in patients with CSA since they are thereby farer away from apneic threshold.

#### P2492 BEDSIDE

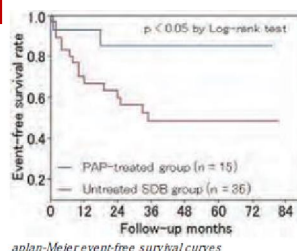
**Impact of continuous positive airway pressure treatment in female patients with cardiovascular disease and sleep-disordered breathing**

Y. Nishihata, Y. Takata, A. To, T. Yamaguchi, S. Shima, Y. Usui, A. Yamashina. Tokyo Medical University, Tokyo, Japan

**Background:** Recent studies have shown that sleep-disordered breathing (SDB) is an independent predictor of poor prognosis and continuous positive airway pressure (CPAP) treatment contributes to reduce the risk. However, the evidence for the effectiveness of CPAP for female patients with cardiovascular disease (CVD) and SDB is lacking. Therefore, we assessed whether CPAP treatment improves long-term cardiovascular outcomes in female patients with CVD and moderate to severe SDB.

**Methods:** We investigated 1693 patients who underwent a polysomnography between November 2004 and July 2011, and enrolled consecutive 51 female patients with moderate to severe SDB (apnea-hypopnea index ≥ 15 per hour), who had been hospitalized due to CVD before the sleep study. They were divided into two groups: a CPAP-treated group (n=15) and an untreated SDB group (n=36). The frequency of death and hospitalization due to cardiovascular events (acute coronary syndrome, heart failure, stroke, and arrhythmias) between the groups was analyzed using multivariate analysis.

**Results:** The mean follow-up period was 311 ± 260 months and 18 patients (35%) died or were re-hospitalized due to cardiovascular events. Kaplan-Meier survival curves indicated that event-free survival was significantly higher in the CPAP-treated group than in the untreated SDB group (Figure). Multivariate analysis showed that the risk for death and re-hospitalization due to cardiovascular events was significantly higher in the untreated SDB group than in the CPAP-treated group (hazard ratio, 5.02; 95% confidence interval, 1.13 to 36.7; p = .005).



**Conclusions:** CPAP treatment improves cardiovascular outcomes in female patients with CVD and moderate to severe SDB.

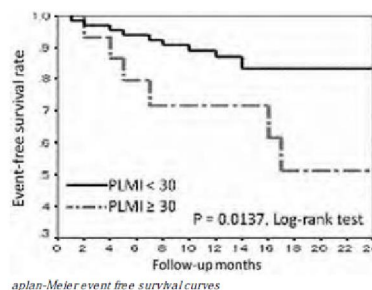
#### P2493 BEDSIDE

**Impact of periodic leg movements on prognosis in patients with sleep-disordered breathing and cardiovascular disease, treating with positive airway pressure devices**

A. To, Y. Takata, Y. Usui, Y. Nishihata, T. Yamaguchi, S. Shima, A. Yamashina. Tokyo Medical University, Tokyo, Japan

**Background:** Periodic leg movements (PLMs) are a disorder characterized by regularly recurring movements of the legs during sleep. It is unclear that PLMs contribute to poor prognosis in patients with cardiovascular disease (CVD) and sleep-disordered breathing (SDB). The aim of this observational study is to determine whether the presence of PLMs affect the long-term outcomes in the patients with CVD and SDB, treating with positive airway pressure (PAP) devices.

**Methods and results:** We studied 181 SDB (apnea-hypopnea index AHI ≥ 15) patients with a history of hospitalization due to CVD, who diagnosed by overnight polysomnography and then treated with PAP devices for secondary prevention. The frequency of PLMs per hour of sleep was quantified as the PLM index (PLMI). Eighty-five patients who could continue with PAP therapy were enrolled. They were classified into 2 groups: PLMI ≥ 30/h and non-PLMI group (PLMI < 30/h). The main outcome measures were cardiovascular death and hospitalization due to CVD during 24 months follow-up. A figure illustrates Kaplan-Meier curves. The hazard ratio was calculated using the Cox proportional hazard model. The univariate predictors of the main outcome were hemoglobin, estimated glomerular filtration rate, brain natriuretic peptide (BNP), left ventricular ejection fraction and PLMI ≥ 30/h. The multivariate analysis revealed that PLMI ≥ 30/h (HR, 3.1995 CI, 1.07-9.48 p0.037) and BNP (HR, 1.00295



**Conclusion:** PLMI ≥ 30/h is a predictor of poor prognosis in patients with CVD and SDB, treating with PAP devices.



# American College Cardiology Congress 2013



E1451  
JACC March 12, 2013  
Volume 61, Issue 10

## Prevention

### FIBROBLAST GROWTH FACTOR 23 AND LOW 25 OH VITAMIN D PLASMA LEVELS ARE INDEPENDENT PREDICTORS OF CARDIOVASCULAR EVENTS IN PATIENTS WITH CHRONIC CORONARY ARTERY DISEASE

Poster Contributions  
Poster Sessions, Expo North  
Monday, March 11, 2013, 9:45 a.m.-10:30 a.m.

Session Title: Prevention: Vitamin D, Omega 3 and Air Pollution  
Abstract Category: 24. Prevention: Clinical  
Presentation Number: 1273-2

Authors: *José Tuñón, Carmen Cristóbal, Nieves Tarín, Emilio Gonzalez-Parra, Álvaro Aceña, María Luisa Gonzalez-Casas, Ana Isabel Huelmos, Óscar Lorenzo, Joaquín Alonso-Martín, Jesús Egido, Lorenzo López-Bescós, IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, Spain*

**Background:** Phosphate (P), parathormone (PTH) and low 25 OH vitamin D (VitD) levels have been related to cardiovascular disorders. Fibroblast growth factor 23 (FGF23) increases renal P excretion. FGF23 plasma levels increase in early chronic kidney disease to compensate low phosphaturia, and have been related to vascular and myocardial damage. We have investigated if plasma levels of these molecules are related to the incidence of cardiovascular events in patients with coronary artery disease (CAD).

**Methods:** We have followed 704 patients with chronic CAD up to 4.6 years. Clinical data were recorded at baseline and plasma was stored at -80°C. We assessed P, PTH, vit D and FGF23. The end-point was the development of ST-elevation myocardial infarction, non-ST elevation acute coronary syndrome, stroke, transient ischemic attack, heart failure or death.

**Results:** Age was  $61.4 \pm 12.3$  and glomerular filtration rate (GFR) estimated by CKD-EPI was  $76.1 \pm 20.5$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. Seventy-five percent were men. Mean follow-up was  $2.15 \pm 0.99$  years. Seventy-seven patients developed the end-point. At univariate analysis, age, creatinin, FGF23 and PTH plasma levels as well as female sex, diabetes, hypertension, previous coronary artery by-pass graft, therapy with acenocumarol, diltiazem, nitrates/nitroglycerin, diuretics or proton pump inhibitors and lack aspirin or statin therapy were associated to the development of this end-point. VitD levels and GFR estimated by CKD-EPI and MDRD were inversely associated to this end-point. C reactive protein, P, and lipid levels did not show significant differences. By Cox proportional hazards regression model only FGF23 [hazard ratio 1.120 (CI 1.029-1.220);  $p=0.009$ ] and vitD levels [hazard ratio 0.677 (CI 0.478-0.958);  $p=0.028$ ] remained as independent predictors of the end-point, along with age, hypertension, and therapy with nitrates and proton pump inhibitors. There was a significant correlation between GFR and both FGF23 ( $r=-0.270$ ;  $p<0.001$ ) and PTH ( $r=-0.355$ ;  $p<0.001$ ). VitD and P were not significantly correlated with renal function.

**Conclusions:** High FGF23 and low VitD plasma levels are independently associated to an adverse prognosis in patients with CAD.

## REVISTA ESPAÑOLA DE CARDIOLOGÍA

### 4008-7 - METABOLISMO MINERAL, INFLAMACIÓN E HIPERTROFIA VENTRICULAR IZQUIERDA

Álvaro Aceña Navarro<sup>1</sup>, María Luisa González Casaus<sup>2</sup>, Emilio González Parra<sup>1</sup>, Ana María Pello Lázaro<sup>1</sup>, Javier Higuera Nafra<sup>3</sup>, Jesús Egido de los Ríos<sup>1</sup> y José Tuñón Fernández<sup>1</sup> de la <sup>1</sup>Fundación Jiménez Díaz, Madrid, <sup>2</sup>Hospital Militar Gómez Ulla, Madrid y <sup>3</sup>Hospital Clínico San Carlos, Madrid.

#### Resumen

**Introducción:** En los últimos años existe un creciente interés en el papel de las alteraciones del metabolismo mineral y la inflamación en el daño cardiovascular. Estudiamos pacientes con cardiopatía isquémica (CI) estable que tenían ecocardiograma transtorácico (ETT) realizado y a los que se les determinaban en sangre marcadores inflamatorios y relacionados con el metabolismo mineral.

**Métodos:** Estudiamos 146 pacientes con CI estable a los que se les realizaba ETT y se extraía plasma y se almacenaba a -80 °C. Se midió el espesor del septo interventricular en el ETT y en plasma se determinaron niveles de calcidiol (metabolito de la vitamina D), paratohormona (PTH) y FGF-23 (fibroblast growth factor-23) relacionados con el metabolismo mineral; y proteína C reactiva, galectina-3, MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1), NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin) y TWEAK (TNF-related weak inducer of apoptosis), involucrados en inflamación.

**Resultados:** La edad media de los pacientes era de  $65,79 \pm 13$  años y el 64,4% eran varones. El filtrado glomerular renal medio era  $72,8 \pm 20,2$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>. Los pacientes con hipertrofia ventricular izquierda (HVI), definida como espesores septales mayores de 11 mm, tenían niveles mayores de PTH ( $90,38 \pm 42,5$  pg/ml en HVI vs  $69,68 \pm 28,79$  pg/ml sin HVI;  $p = 0,002$ ) y NGAL ( $208,46 \pm 87,6$  ng/ml en HVI vs  $173,91 \pm 73,36$  ng/ml sin HVI;  $p = 0,031$ ). Los varones tenían niveles significativamente más elevados de galectina-3 ( $8,39 \pm 2,48$  ng/ml en varones vs  $9,49 \pm 2,85$  ng/ml en mujeres;  $p = 0,020$ ). Había una correlación estadísticamente significativa entre los espesores septales y los niveles plasmáticos de PTH ( $r = 0,220$ ;  $p = 0,007$ ), NGAL ( $r = 0,219$ ;  $p = 0,008$ ), galectina-3 ( $r = 0,245$ ;  $p = 0,003$ ) y MCP-1 ( $r = 0,021$ ;  $p = 0,009$ ). La edad se correlacionaba significativamente con los niveles de galectina-3 ( $r = 0,0385$ ;  $p < 0,0001$ ), MCP-1 ( $r = 0,371$ ;  $p < 0,001$ ), NGAL ( $r = 0,0397$ ;  $p < 0,001$ ) y PTH ( $r = 0,032$ ;  $p < 0,001$ ). Mediante regresión logística, en un modelo en el que se incluía la hipertensión, la edad [*odds ratio*: 1,044 (1,004-1,085);  $p = 0,031$ ] y el logaritmo de PTH [*odds ratio*: 14,787 (1,136-192,510);  $p = 0,040$ ] eran los únicos predictores independientes de la existencia de HVI.

**Conclusiones:** En una población de pacientes con CI estable los niveles elevados de PTH se asocian independientemente a la existencia de HVI. Se precisan nuevos estudios para dilucidar el papel de las alteraciones del metabolismo mineral en el desarrollo de HVI.

# REVISTA ESPAÑOLA DE CARDIOLOGIA

## 4049-7 - LA COEXISTENCIA DE NIVELES BAJOS DE VITAMINA D Y ELEVADOS DEL FACTOR DE CRECIMIENTO DE LOS FIBROBLASTOS-23 PREDICE EL DESARROLLO DE EVENTOS ADVERSOS EN PACIENTES CON ENFERMEDAD CORONARIA

José Tuñón Fernández<sup>1</sup>, Carmen Cristóbal Varela<sup>2</sup>, M. de las Nieves Tarín Vicente<sup>3</sup>, María Luisa González Casaus<sup>1</sup>, Ana Isabel Huelmos<sup>1</sup>, Álvaro Aceña Navarro<sup>1</sup>, Lorenzo López Bescós<sup>1</sup> y Jesús Egido de los Ríos<sup>1</sup> de la <sup>1</sup>IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, <sup>2</sup>Hospital Universitario de Fuenlabrada (Madrid) y <sup>3</sup>Hospital Universitario de Móstoles (Madrid).

### Resumen

**Introducción:** La vitamina D y el factor de crecimiento de fibroblastos-23 (FGF-23) están implicados en la enfermedad renal y se han relacionado con el desarrollo de Cardiopatía Isquémica (CI). Hemos investigado si los niveles plasmáticos de calcidiol (un metabolito de la vitamina D) y de FGF-23 están relacionados con la incidencia de eventos adversos en pacientes con CI.

**Métodos:** Seguimos a 704 pacientes con CI hasta 4,6 años. Evaluamos los niveles plasmáticos de calcidiol, FGF-23, fosfato y parathormona basalmente. El objetivo era el desarrollo de un evento vascular isquémico agudo (síndrome coronario agudo con/sin elevación de ST, accidente cerebrovascular o accidente isquémico transitorio) insuficiencia cardíaca o muerte.

**Resultados:** La edad fue  $61,4 \pm 12,3$ , el 75,3% eran hombres y el seguimiento medio fue  $2,15 \pm 0,99$  años. Setenta y siete pacientes desarrollaron el objetivo. Junto a la edad, existencia de hipertensión arterial y tratamiento con nitratos o inhibidores de la bomba de protones, los niveles de calcidiol y FGF-23 eran predictores independientes del desarrollo del objetivo [Riesgo Relativo: 0,677, intervalo de confianza del 95% (IC) 0,478-0,958,  $p = 0,028$  y 1,120 (IC 1,029-1,220,  $p = 0,009$ ), respectivamente] (modelo de riesgo proporcional de Cox). El filtrado glomerular renal no tenía valor predictivo independiente. Los niveles de calcidiol bajo y altos de FGF-23 se asociaron a menor supervivencia libre de eventos ( $p = 0,004$  en ambos casos, test de log-rank). El poder predictivo de los niveles de calcidiol era más fuerte en los pacientes que presentaban niveles de FGF-23 por encima de la mediana (69,9 RU/ml) ( $p = 0,002$ ) y desaparecía en los que estaban por debajo de este valor ( $p = 0,763$ ). Del mismo modo, los niveles plasmáticos de FGF-23 mostraban un alto poder predictivo en pacientes con niveles de calcidiol por debajo de la mediana (19,9 ng/dl) ( $p = 0,003$ ), pero no en los que estaban por encima de este valor ( $p = 0,754$ ). No hubo correlación entre los niveles de calcidiol y FGF-23 ( $r = -0,077$ ,  $p = 0,058$ ). La coexistencia de deficiencia grave de calcidiol (0,00-10,00 ng/ml) y de niveles de FGF-23 por encima de la mediana confería un riesgo de eventos más alto que cualquier otra variable [3,213 (IC 1,700-6,070),  $p < 0,001$ ].

**Conclusiones:** La coexistencia de niveles plasmáticos bajos de calcidiol y elevados de FGF-23 se asocia de forma independiente con un pronóstico adverso en pacientes con CI.



# REVISTA ESPAÑOLA DE CARDIOLOGÍA

## 6022-674 - PREVALENCIA DE LAS ALTERACIONES DEL METABOLISMO MINERAL EN PACIENTES CON ENFERMEDAD CORONARIA

José Tuñón Fernández<sup>1</sup>, Carmen Cristóbal Varela<sup>2</sup>, M. de las Nieves Tarín Vicente<sup>3</sup>, Álvaro Aceña Navarro<sup>1</sup>, María Luisa González Casaus<sup>1</sup>, Joaquín J. Alonso Martín<sup>2</sup>, Emilio González-Parra<sup>1</sup> y Jesús Egido de los Ríos<sup>1</sup> del <sup>1</sup>IIS-Fundación Jiménez Díaz, Madrid, <sup>2</sup>Hospital Universitario de Fuenlabrada, Madrid y <sup>3</sup>Hospital Universitario de Móstoles, Madrid.

### Resumen

**Introducción:** Las anomalías del metabolismo mineral [vitamina D, factor de crecimiento de fibroblastos-23 (FGF-23), parathormona (PTH) y fosfato (P)] están relacionados clásicamente con el daño renal. Sin embargo, datos recientes también los relacionan con la enfermedad cardiovascular. Describimos la prevalencia de alteraciones del metabolismo mineral en pacientes con cardiopatía isquémica estable (CI).

**Métodos:** Estudiamos 704 pacientes con CI. Se registraban variables clínicas y se almacenaba plasma a -80°C.

**Resultados:** La edad era  $61,4 \pm 12,3$  años y el 75% eran varones. El filtrado glomerular estimado (FG) era  $77,7$  ( $63,6$ - $89,9$ ) ml/min  $1,73$  m<sup>2</sup> y el 20,3% de los pacientes tenían este valor  $< 60$  ml/min  $1,73$  m<sup>2</sup>. Los niveles de calcidiol (metabolito de vitamina D), mostraban deficiencia grave ( $\leq 10,0$  ng/ml) en 10,9% de los pacientes, moderada ( $10,01$ - $20,00$  ng/ml) en 46,4%, niveles subóptimos ( $20,01$ - $30,0$  ng/ml) en 32,3% y eran normales ( $> 30$  ng/ml) en el 10,4%. Los niveles de PTH fueron  $59,7$  ( $45,5$ - $77,5$ ) pg/ml y 30% de los pacientes tenían niveles altos ( $> 74$  pg/ml). Los niveles de P fueron  $3,2$  ( $2,8$ - $3,5$ ) mg/dl, con el 0,4% de los pacientes con valores elevados ( $> 5,1$  mg/dl). Los niveles de FGF-23 fueron  $69,9$  ( $54,5$ - $96,3$ ) RU/ml, con 11,5% de pacientes con niveles elevados ( $> 130$  RU/ml). El FG se correlacionó moderadamente con FGF-23 ( $r = -0,286$ ,  $p < 0,001$ ) y PTH ( $r = -0,374$ ,  $p < 0,001$ ), pero no con calcidiol ( $r = 0,016$ ,  $p = 0,677$ ) y P ( $r = -0,003$ ,  $p = 0,944$ ). La edad mostró una correlación leve con los niveles de FGF-23 ( $r = 0,104$ ,  $p = 0,010$ ) y PTH ( $r = 0,209$ ,  $p < 0,001$ ), pero no con los de calcidiol ( $r = -0,034$ ,  $p = 0,370$ ) y P ( $r = -0,004$ ,  $p = 0,906$ ). El calcidiol mostró una débil correlación con MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) ( $r = -0,085$ ,  $p = 0,024$ ) y proBNP ( $r = -0,084$ ;  $p = 0,026$ ), pero no con proteína C reactiva de alta sensibilidad (PCRhs). FGF-23 se correlacionó con MCP-1 ( $r = 0,182$ ;  $p < 0,001$ ), proBNP ( $r = 0,439$ ;  $p < 0,001$ ) y PCRhs ( $r = 0,127$ ;  $p = 0,002$ ). PTH se correlacionó con MCP-1 ( $r = 0,148$ ;  $p < 0,001$ ) y proBNP ( $r = 0,355$ ;  $p < 0,001$ ) pero no con PCRhs. Los niveles de P no se correlacionaban con estos marcadores.

**Conclusiones:** Los pacientes con CI presentan una alta prevalencia de alteraciones en los niveles de calcidiol, FGF-23 y PTH, que no se explican por la edad ni por un deterioro de la función renal. Los niveles plasmáticos de alguna de estas moléculas se correlacionan con los de los biomarcadores pronósticos PCRhs, MCP-1 y proBNP.